

Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont

# III. ATK Tudományos Nap

*A jövőt alakító Európai Unió agrárkutatási programok  
az MTA ATK-ban*



2014. november 13.  
**Martonvásár**



**Magyar Tudományos Akadémia  
Agrártudományi Kutatóközpont**

## **III. ATK Tudományos Nap**

*A jövőt alakító Európai Unió  
agrárkutatási programok az MTA ATK-ban*

### **Összefoglalók**

Szerkesztette  
**JANDA TIBOR**

2014. november 13.  
Martonvásár



Kiadja  
a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont, Martonvásár  
Felelős kiadó: Bedő Zoltán

Borítóterv: Vécsey Attila  
Technikai szerkesztő: Timár Nóra

Nyomdai munkák: Conint-Print Kft.  
Felelős vezető: Váradi Attila

ISBN: 978-615-5387-03-6

# TARTALOM

Program.....	5
--------------	---

## ELŐADÁSOK

NAGY, B. – S. SMOLE MOŽINA – J. KOVAČ – M. WAGNER – D. SCHODER – A. STRAUSS – S. SCHLAGER – J. BEUTLICH – B. APPEL – M. LUŠICKY – M. CIMERMAN – P. APRIKIAN – I. TÓTH – R. KUGLER – A. SZMOLKA: Első megfigyelések az EU határokon illegálisan beszivárgó zoonotikus kórokozókról.....	7
KARSAI ILDIKÓ – KISS TIBOR – VEISZ OTTÓ – SOLTÉSZ ALEXANDRA – GALIBA GÁBOR – SIMON GRIFFITHS: Csírázástól a kalászoláshoz – a búza fejlődésének genetikája és fiziológiája.....	12
KÁRPÁTI ZSOLT: A kukoricamoly gazdanövényváltásának neuroetológiai vizsgálata.....	17
JENEY GALINA – ARDÓ LÁSZLÓ – JENEY ZSIGMOND: Akvakultúra infrastruktúrák az európai halászati kutatások kiválóságára – <b>Aquaculture Infrastructures for Excellence in European Fish Research (AQUAEXCEL)</b> projekt bemutatása.....	22
SUSUMU TAKAMATSU: Phylogeny and evolution of powdery mildew fungi (Erysiphales): an overview.....	26
HARRACH BALÁZS – IVA I. PODGORSKI: Jó vírus – rossz vírus? (Gyógyító vírusok).....	30
HETTYEY ATTILA: Fenotípusos plaszticitás egy gerinces faj kémiai védekezésében.....	36
RAKSZEGI MARIANN – MIKÓ PÉTER – MEGYERI MÁRIA – BEDE KAROLINA – LÁNG LÁSZLÓ – KOVÁCS GÉZA – LÁNGNÉ MOLNÁR MÁRTA: Nemesítési és szántóföldi menedzsment stratégiák organikus és 'low-input' körülményekre.....	41
DOMBOS MIKLÓS – TÓTH MIKLÓS: Új szenzorok rovarok on-line detektálására.....	46
Titoktartási felhívás.....	51





## Program

10:00–10:20 **Megnyitó**

Levezető elnök: **Bedő Zoltán**

10:00–10:10 **Németh Tamás**

*Köszöntő*

MTA Agrártudományok Osztályának elnöke

10:10–10:20 **Bedő Zoltán**

*Az MTA ATK európai megmértetése*

MTA ATK főigazgató

### ELŐADÁSOK

**Nagy Béla** MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet

*„Első megfigyelések az EU határokon illegálisan beszivárgó zoonotikus kórokozókról”*

**PROMISE**

**Karsai Ildikó** MTA ATK Mezőgazdasági Intézet

*„Csírázástól a kalászoslásig – a búza fejlődésének genetikája és fiziológiája”*

**ADAPTAWHEAT**

**Kárpáti Zsolt** MTA ATK Növényvédelmi Intézet

*„A kukoricamoly gazdanövényváltásának neuroetológiai vizsgálata”*

**HOST SHIFT**

**Jeney Galina** – vendég előadó, NAIK Halászati Kutató Intézet

*„Akvakultúra infrastruktúrák az európai halászati kutatások kiválóságára –*

*Aquaculture Infrastructures for Excellence in European Fish Research (AQUAEXCEL)*

*projekt bemutatása”*

**AQUAEXCEL**

**Susumu Takamatsu** – vendég előadó; Department of Bioresources, Mie University

*„Phylogeny and evolution of powdery mildew fungi (Erysiphales): an overview”*

**Harrach Balázs** MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet

*„Jó vírus – rossz vírus? (Gyógyító vírusok)”*

**AD-VANCE, AD-VEC**

**Hettyey Attila** MTA ATK Növényvédelmi Intézet

*„Fenotípusos plaszticitás egy gerinces faj kémiai védekezésében”*

**CHEMICAL DEFENCES**

**Rakszegi Marianna** MTA ATK Mezőgazdasági Intézet

*„Nemesítési és szántóföldi menedzsment stratégiák organikus és 'low-input' körülményekre”*

**SOLIBAM**

**Dombos Miklós** MTA ATK Talajtani és Agrokémiai Intézet

*„Új szenzorok rovarok on-line detektálására”*

**INSECTLIFE**

Az elhangzott előadások betekintést nyújtanak az MTA ATK támogatott kutatásaiba.

Az MTA ATK-ban jelenleg futó Európai Uniók projektek nagy száma

nem teszi lehetővé azok teljeskörű bemutatását.





## ELSŐ MEGFIGYELÉSEK AZ EU HATÁROKON ILLEGÁLISAN BESZIVÁRGÓ ZOONOTIKUS KÓROKOZÓKRÓL

NAGY, B.<sup>1</sup>, S. SMOLE MOŽINA<sup>2</sup>, J. KOVAČ<sup>2</sup>, M. WAGNER<sup>3</sup>, D. SCHODER<sup>3</sup>, A. STRAUSS<sup>3</sup>, S. SCHLAGER<sup>4</sup>, J. BEUTLICH<sup>5</sup>, B. APPEL<sup>5</sup>, M. LUŠICKY<sup>6</sup>, M. CIMERMAN<sup>6</sup>, P. APRIKIAN<sup>7</sup>, I. TÓTH<sup>1</sup>, R. KUGLER<sup>1</sup>, A. SZMOLKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Veterinary Medical Research, Ctr. Agric. Res., Hung. Acad. Sci., Budapest, Hungary

<sup>2</sup>Department of Food Science/Technology, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Slovenia

<sup>3</sup>University of Veterinary Medicine, Institute for Milk Hygiene,  
Milk Technology and Food Science, Vienna, Austria

<sup>4</sup>AGES, Institute für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Graz, Austria

<sup>5</sup>Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, Germany

<sup>6</sup>Center for Microbiology, Institute of Public Health Maribor, Slovenia

<sup>7</sup>nagy.bela@agrar.mta.hu

Az EU FP7 PROMISE („Protection of consumers by microbial risk mitigation through combating segregation of expertise”) projekten belül a WP1 munkacsoportot az MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézetének Enterális Bakteriológia és Alimentáris Zoonózis témacsoportja vezeti. Feladata: az EU határok utasforgalmában illegálisan áthozott, elsődlegesen az állati eredetű ún. élelmiszerrel terjedő zoonotikus kórokozók (*Salmonella*, verotoxikus *E. coli*, multirezisztens *E. coli*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*) kimutatása és molekuláris jellemzése. A kimutatási módszerek alapját a kórokozókra érvényes ISO módszerek és szükség esetén azokhoz rendelt PCR-ek alkották, míg a fenotípusos és molekuláris jellemzésre szerológiai, szövettenyészeti, ill. PCR, RT-PCR, PFGE, MLST és PCR-microarray rendszereket alkalmaztunk. A WP1 munkacsoport („Analysis of Neglected Exogenous Routes of Transmission of Foodborne Pathogens”) az EU kilenc országának határain elkobzott, összesen 2580 mintán végzett vizsgálatainak célja, hogy eddig kevésbé vagy egyáltalán nem vizsgált, az EU határokon kívüli fertőzési forrásokról, s általuk képviselt kockázatokról pontosabb képet kaphassunk s azt a fogyasztók felé továbbíthassuk. Eredményeink nemzetközileg elsőként szolgáltatnak harmonizált módszereken alapuló összehasonlító adatokat az EU-ba irányuló utasforgalom élelmiszerbiztonsági kockázatainak értékelésére.

Bár a fenti zoonotikus baktériumok gyakorisága az EU országok idevonatkozó, EFSA jelentésekben szerepeltetett gyakorisági adataitól lényegesen nem tért el, egyes esetekben eddig kevésbé ismert vagy ismeretlen genotípusok (pl. VTEC), és/vagy genetikai variánsok (*Listeria monocytogenes*) vagy rezisztencia-, és virulenciadeterminánsok (pl. MDR *E. coli*) voltak kimutathatók. Tudatában vagyunk annak, hogy adataink csupán a jéghegy csúcsát érzékeltethetik, s úgy véljük, hogy hasonló vagy kiterjedtebb (pl. vírusok kimutatásával kiegészített) vizsgálatok is szükségesek lennének, jövőbeni időszakos monitorozás formájában. Mivel a kívülről jövő kórokozók virulencia-, és rezisztenciadeterminánsai új és váratlan közegészségügyi veszélyforrásokat képezhetnek, korai felismerésükre ilyen módon is törekednünk kell.

### Bevezetés

Az állatról emberre terjedő betegségeket okozó, zoonotikus kórokozók világszerte a fertőző betegségek mintegy háromnegyedét okozzák, s többnyire a szennyezett állati-, esetenként növényi eredetű élelmiszerrel terjednek. A zoonotikus kórokozókat közvetítő élelmiszerek és azok eredetét szolgáló fertőzött élelmiszertermelő állatok rendszeres ellenőrzése 2003 óta az EU élelmiszerbiztonsági prioritásai közé tartozik, s ennek alapját az ún. EU Zoonózis Monitorozási Irányelv (Directive 2003/99/EC) adja meg. E rendelet a már korábban is zoonotikusnak ismert baktériumokon túl, az élelmiszerrel terjedő, alábbi baktériumokra és antibiotikum rezisztenciájának analizésére irányuló folyamatos és harmonizált vizsgálatokat



ír elő: *Campylobacter*, *Listeria*, *Salmonella* és verotoxikus *E. coli* (VTEC). Ezen túl, ajánlja a kommenzalista indikátor baktériumok (*E. coli* és enterococcusok) vizsgálatát is. Az egyes EU országok fentiekre irányuló élelmiszervizsgálati adatait az idevonatkozó közegészségügyi adatokkal egybevethető módon, az Európai Egészségügyi Központ (ECDC) valamint az EU Élelmiszerbiztonsági Hivatala (EFSA) újabban együttes éves jelentések formájában adja közre (pl. a 2012. évi adatokat közlő jelentés: EFSA, 2014).

Az alfabetikus rendben felsorolt kórokozók közül a campylobacter-megbetegedések jelenleg Európában s így Magyarországon is az élelmiszer által közvetített, gyomor-bélgyulladás, hasmenéssel járó megbetegedések között a leggyakoribbak, melyeket túlnyomóan a *C. jejuni*, ritkábban *C. coli* okoz. Fertőzési forrásként rendszerint a nyers vagy nem kellően hőkezelt baromfihús, néha nyers tej vagy ivóvíz szerepel, s a fertőzött állatok rendszerint tünetmentesek. Az emberben fellépő enterális tünetek mellett viszont izületgyulladások, idegrendszeri tünetek (pl. Guillain-Barré szindróma) is kialakulhatnak. További figyelemreméltó jelenség, hogy az utóbbi években jelentősen megnőtt a baromfi- és humán eredetű *C. jejuni* törzsek fluorokinolon rezisztenciája. Szerencsére a környezeti hatásokra rendkívül érzékenyek (42 °C-os, 5% CO<sub>2</sub>-os tenyésztést igényelnek), s ezért az élelmiszerek felületén rövid idő alatt jelentős csíraszám csökkenéssel számolhatunk.

A listeriosist – ezzel szemben – a környezetben természetes körülmények között előforduló (talajban élő) *Listeria* genusok: *Listeria monocytogenes*, ritkábban *L. ivanovii* idézik elő, melyek – mint feltételesen kórokozó baktériumok – az ember és állatok bélcsatornájában gyakran fordulnak elő, rendszerint közös forrásból eredő fertőzések eredményeként. Ezért a listeriosist szaprozoonózisnak tekintjük, melynek esetenként a fertőzött állatból közvetlenül is emberbe kerülhet, s ilyen esetekben ortozoonózisról beszélünk. A fentiekből adódóan a listeriák esetében gyakori a tünetmentes baktériumhordozás, melyből hajlamosító tényezők hatására különböző megbetegedések (pl. juhok agyvelőgyulladása, szarvasmarhák, juhok vetélése) alakulhatnak ki. Emberben enyhébb esetben fejfájás, hányinger, légúti tünetek, vagy legyengült idősokban, immunszupresszált egyénekben viszont 10-20% halálozási aránnyal járó izületgyulladás, agyhártya-, agyvelőgyulladás, terhes anyáknál magzatkárosodás és vetélés alakulhat ki.

A salmonellosisokat a környezetben és állatban, emberben egyaránt jól megtelepedni és túlélni képes *Salmonella enterica* subsp. *enterica* mintegy 2400 szerotípusa (szerovariánsa) okozhat, melyek közül viszonylag kevés zoonotikus jelentőségű szerotípussal (pl. *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. infantis*, *S. hadar* stb.) kell számolni, mint leggyakoribb humán kórokozóval. A *Salmonella* okozta ételfertőzéseket Európában még ma is leggyakrabban a tojás és nyers baromfi hús okozza, de ezek gyakorisága a baromfiállományokban folytatott *Salmonella* mentesítési programok és EU rendeletek (Regulation EC 2160/2003, EC 1003/2005) hatására az utóbbi 8-10 évben jelentősen csökkent. A túlnyomóan tünetmentes fertőzött állatokból (baromfi mellett sertés-, és szarvasmarhából) készült élelmiszerekből a *Salmonella* baktériumok az emberi gyomor-bélcsatornába jutva a fertőző dózistól és a kórokozó típusától valamint a szervezet ellenálló képességétől függően okozhatnak hasmenéssel járó enyhébb, vagy súlyosabb lázas általános tüneteket (esetleg szeptikémiát), de ezek elmaradása mellett vagy a tüneteket követően, gyakran alakulhat ki tünetmentes baktériumhordozás és -ürítés is.

A verotoxikus *E. coli* (VTEC) baktériumok az ember és állatok normál bélflóráját alkotó kommenzalista *E. coli* törzsek közül évszázadok során szelektálódhattak ki, legvalószínűbben azért, hogy a humán kórokozó *Shigella dysenteriae* törzsekhez hasonlóan, a fágok által közvetített toxinképző tulajdonságokat átvéve, okoztak súlyos hasmenést és terjedhettek el a beteg emberek (esetenként állatok) környezetében. A megbetegedés kiváltásáért felelős toxinjaikat legegyszerűbben Vero sejtvonalon mutathatjuk ki. Innen ered a verotoxikus *E. coli* (VTEC) elnevezésük.

A *Shigella* toxinokkal való nagyfokú hasonlóság miatt azonban a szinonimaként használt *Shiga* toxikus *E. coli* (STEC) elnevezés is gyakori. Az emberben – különösen pedig gyermekekben – súlyos hasmenést és vérzéses vastagbélgyulladást, esetenként pedig a toxinfelszívódás következményeként kialakuló veseelfajulást, hemolitikus-urémiás szindrómát (HUS) okozó VTEC törzsek különböző *E. coli* szerotípusokat képviselhetnek. Ezek között leggyakoribb az O157:H7 szerotípus. Emellett sok más VTEC szerocsoportot (pl. O26, O55, O111, O128) ismerünk melyeket hemorrhagiás enteritist okozó *E. coli* (EHEC) törzsekként tartunk számon, melyek közös tulajdonsága, hogy az ún. vero-, vagy shiga toxinnak egyik vagy másik típusát (Stx1 vagy Stx2) termelik, s emellett a bélbolyhok károsodását, (ún. „attaching effacing” léziót) okozva, szorosan a bélhámsejtek falához képesek tapadni, s e célból az *eae* gén által kódolt intimint mint adhézions fehérjét termelik. Az EHEC törzsek mellett ma már százon felüli azon szerotípusok száma, melyek csak verotoxint termelnek, de a fenti, különleges tapadó készséggel nem rendelkeznek, s így feltehetően kevésbé virulensek. Ilyen irányú jövőbeni összehasonlító vizsgálatok azonban még számos érdekes kérdést tartogatnak, melyek fontosságára rávilágít a 2001. évi, szokatlan típusú (Stx termelő, entero-aggregatív, O104:H4) *E. coli* okozta németországi/franciaországi EHEC járvány. Élelmiszer-biztonsági szempontból fontos tudnunk, hogy mindezen VTEC típusok az állatok, különösen pedig a kérődzők, bélcsatornájában gyakran megtalálhatók, legtöbbször tünetmentes ürítés vagy – borjak esetén – enyhe vörhenyes nyálkás hasmenés mellett. Így a tej, és tejtermékek, valamint a vágómarhák húsa különböző típusú VTEC baktériumokkal lehetnek szennyezettek, melyek a külvilágban jó túlélési (pl. savtűrő) képességgel rendelkeznek, s emberre nézve alacsony fertőzési dózisban is veszélyesek lehetnek.

Az itt ismertetett zoonótikus, élelmiszerszennyező baktériumokat közvetítő élelmiszerek és azok eredetét szolgáló fertőzött állatok rendszeres ellenőrzését – mint fent írtuk – az ún. EU Zoonózis Monitorozási Irányelve előírja, s ennek alapján az illetékes hatóságoknak az Európai Unióban előállított élelmiszerek szennyezettségéről egy hozzávetőleges képe van. Ami viszont a kívülről behozott élelmiszereket illeti, információink jóval szegényesebbek. Különösen igaz ez az Európán túlról származó, hivatalosan be nem hozható élelmiszerekre vonatkozóan. Ezért az EU FP7 PROMISE („*Protection of consumers by microbial risk mitigation through combating segregation of expertise*”) project a KBBE-2010-4 es pályázati kiírás alapján elkészített, 2012. januárban indult pályázati munka elsősorban az ilyen illegális élelmiszerek zoonótikus baktériumainak jellemzésére irányul. A projekt két munkacsoportja (WP1 és WP2) a klasszikus kutatási feladatokat, egy munkacsoport (WP3) az EU élelmiszerbiztonsági adatok modellezését, ill. három további munkacsoport (WP4-WP6) különböző módszertani és tudományos képzési és továbbképzési, valamint információtovábbítási és felvilágosító tevékenységet takar.

A fent említett PROMISE WP1 munkacsoport célja, hogy a fenti zoonótikus kórokozók tekintetében az eddig kevésbé vagy egyáltalán nem vizsgált, EU határokon kívüli, fertőzési forrásokról s az általuk képviselt kockázatokról pontosabb képet kaphassunk, majd azt a kutatói közösség és a döntéshozók, valamint fogyasztók felé továbbíthassuk. Ezen munkacsoport – az MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézete vezetésével elért eddigi, jórészt még publikálatlan – eredményeinek egy részét ismerteti.

### Módszerek

A mintavételek elsősorban repülőtéri határállomási utasforgalmi ellenőrzések során, az illetékes állategészségügyi és élelmiszer ellenőrzési, valamint vám- és pénzügyi hatóságok által megszabott rendben, az 1. sz. táblázatban meghatározott WP1 partnereknél feltüntetett mintaszámmal történtek. A minták feldolgozására a célzott kórokozónak megfelelő alábbi ISO módszereket használtuk: *Salmonella* spp.: ISO 6579-2006, VTEC-O157: ISO 16654:2001, VTEC non-O157: ISO/TR 13136:2012 (Ridascreen®, R-Biopharm kiegészítéssel), *Campylobacter* spp.: ISO 110272-1:2006, *Listeria monocytogenes*: ISO 11290-1996, HF elődúsítással.



Az izolált baktériumok fenotípusos és molekuláris jellemzésre az illetékes EU Referencia Laboratóriumok által ajánlott szerológiai, szövettényezési, illetve PCR, RT-PCR, PFGE, MLST és PCR-microarray rendszereket alkalmaztuk, melyek ismertetése a jelen összefoglaló kereteit túlhaladná.

Az ajánlásokon túlmenően a VTEC és multirezisztens (MDR) *E. coli* baktériumok virulencia és antibiotikum rezisztencia genotípusának meghatározására az *Anjum és mtsai.* (2007), valamint a *Batchelor és mtsai.* (2008) által ismertetett Identibac Ec03, illetve AMR05 microarray rendszereket, továbbá ezek esszenciális virulencia és rezisztencia génjeinek ellenőrzésére az általunk korábban leírt PCR tesztek (Tóth és mtsai. 2009, illetve Szmolka és mtsai. 2012) alkalmaztuk.

### Eredmények és megbeszélés

Az EU FP7 PROMISE projektben résztvevő 9 ország EU határállomásain elkobzott, összesen 2580 mintából izolált kórokozók molekuláris jellemzése és az adatok kiértékelése még folyamatban van, de az eredmények előzetes összegzése (1. táblázat) alapján az alábbiak állapíthatók meg.

**1. táblázat.** A PROMISE WP1 minta eloszlásának és a 2003/99/EC, EU irányelv szerinti zoonotikus kórokozó baktériumokra vonatkozó ideiglenes eredményeinek áttekintése

Partner	Mintasám	<i>Salmonella</i> <i>spp.</i>	<i>Campylobacter</i> <i>spp.</i>	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes.</i>	VTEC/ STEC	MDR <i>E. coli</i> **
<b>P1</b> (Osztrák)	<b>600</b>	7	0	15	7	15
<b>P2</b> (Német)	<b>800</b>	5	0	4	6	10
<b>P4</b> (Görög)	<b>184</b>	0	NA	20	4	NA
<b>P6</b> (Spanyol)	<b>179</b>	15	NA	18	0	NA
<b>P8</b> (Szlovén)	<b>103</b>	1	2	4	4	NA
<b>P9</b> (Magyar)	<b>207</b>	0	1	NA	0	14
<b>P11</b> (Román)*	<b>200</b>	0	0	15	0	NA
<b>P12</b> (Török)	<b>207</b>	17	0	5	0	NA
<b>P14</b> (Horvát)	<b>100</b>	1	0	2	NA	0
<b>Összesen</b>	<b>2 580</b>	46 (1,8%)	3 (NA)	83 (3,5%)	15 (0,6%)	39 (2,4%)

\* VTEC = verotoxikus *E. coli* (Shigatoxikus *E. coli*), \*\* MDE *E. coli* = multirezisztens *E. coli*

Az EU-n kívülről illegálisan behozott állati eredetű élelmiszerek vizsgált tételeiben, azok állatfajtól és alapanyagától (tej, tojás, hús) független első megközelítésben a vizsgált zoonotikus kórokozók gyakorisága nem múlta felül azon értékeket, melyeket ugyanezen időszakra nézve az EU átlagokat jellemző értéknek ismerünk (EFSA/ECDC 2014). Az egyes országokat képviselő partnerek adatai viszont e tekintetben jelentős szórást mutatnak, s ugyancsak széles skálán mozognak majd ezen értékek, ha valamennyi partner, állatfajok és ezekből származó élelmiszer-kategóriák szerinti eredményei rendelkezésünkre fognak állni. Ezen adatokat a még folyamatban lévő WP1.5-ös alprogram eredményeként ismerjük majd meg. Ami viszont a fenti táblázati adatokból idevonatkozóan megállapítható, arra az egyes kórokozókra vonatkozó, alábbi rövid eredményközlésben térünk ki.

*Salmonella* *spp.* legnagyobb gyakorisággal a P6 (spanyol) és P12 (török) partner vizsgálati eredményei között szerepeltek. Az összesen 46 izolátum rendkívül eltérő szerotípusokat (*S. infantis*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, stb.) képviselt. Ebből 33 törzs részletes antibiotikum rezisztencia analízise a törzsek 1/3-ad részét multirezisztensnek mutatta.

*Campylobacter jejuni*-t mindössze 3 mintából izoláltunk, mely ezen baktériumok fentiekben említett nagyfokú érzékenységevel magyarázható. Ezekből két baromfi eredetű törzs viszont multirezisztensnek bizonyult, s egyikük egy ritka (ST107) genotípust képviselt.

*Listeria monocytogenes* törzsek okozta kontaminációt leggyakrabban (7-10%) a görög, spanyol és román (P4, P6 és P11) partnerek mutattak ki, s összességében a vizsgált törzsek között számos érdekes genotípust találtak. Így az ST9 és ST121 genotípusokat húsmintákból, míg az ST20-at hal mintákból és moldáviai, valamint szerbiai kolbász mintákból izolálták.

Verotoxikus *E. coli* (VTEC) törzset összesen 15-öt (0,6%) izoláltunk, elsősorban törökországi eredetű sajt mintákból, változatos szerotípus és három új genotípus mellett, feltűnő antibiotikum érzékenységet mutatva. Közöttük egyetlen EHEC (O26:H46 típusú) törzset mutatunk ki.

A multirezisztens (MDR) *E. coli* baktériumok gyakorisága (2,4%) az EU átlag körülinek mondható, de ezek között jelentős arányban (>70%) voltak széles spektrumú beta-laktamáz (ESBL) termelő törzsek, továbbá egy enteropathogén *E. coli* (EPEC) törzset is kimutattunk.

### Következtetések

Eredményeink nemzetközileg elsőként szolgáltatnak harmonizált módszereken alapuló összehasonlító adatokat az EU-ba irányuló utasforgalom élelmiszerbiztonsági kockázatainak értékelésére. Bár a fenti zoonotikus baktériumok gyakorisága az EU országok idevonatkozó adataitól lényegesen nem tért el, egyes esetekben eddig kevésbé ismert vagy ismeretlen genotípusok (pl. VTEC) és/vagy genetikai variánsok (*Listeria monocytogenes*), vagy rezisztencia- és virulencia determinánsok (pl. MDR *E. coli*) voltak kimutathatók.

### Köszönetnyilvánítás

Köszönjük az EU FP7 PROMISE projekt anyagi támogatását, s tagjainak együttműködését, továbbá köszönjük Dr. Herpay Mária, Dr. Pászti Judit osztályvezetőknek (OEK, Budapest) és Dr. Pavel Aprikiannak (IDGenomics, USA) a VTEC törzsek O-típusára és genotípusára irányuló munkákat.

### Irodalom

- Anjum, M.F., Mafura, M., Slickers, P., Ballmer, K., Kuhnert, P., Woodward, M.J., Ehricht, R. (2007) Pathotyping *Escherichia coli* by using miniaturized DNA microarrays. **Appl. Environ. Microbiol.** 73: 5692-5697.
- Batchelor, M., Hopkins, K.L., Liebana, E., Slickers, P., Ehricht, R., Mafura, M., Aarestrup, F., Mevius, D., Clifton-Hadley, F.A., Woodward, M.J., Davies, R.H., Threlfall, E.J., Anjum, M.F. (2008) Development of a miniaturised microarray-based assay for the rapid identification of antimicrobial resistance genes in Gram-negative bacteria. **Int. J. Antimicrob. Agents.** 31: 440-451.
- EFSA / ECDC (2014) The European Union summary Report on Trends and sources of zoonoses. Zoonotic agents and Food-borne Outbreaks in 2012. **EFSA Journal** 12 (2) 3547.
- EU Directive 2003/99/EC of the European Parliament and of the Council on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, amending Council Decision 90/424/EEC and repealing Council Directive 92/117/EEC. **Official Journal of the European Union** 12.12.2003. L 325/301.
- EU Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003. on the control of Salmonella and other specified food-borne zoonotic agents **Official Journal of the European Union** 12.12.2003. L 325/1.
- Szmolka, A., Anjum, M.F., La Ragione, R., Kaszanyitzky, E.J., Nagy, B. (2012) Microarray based comparative genotyping of gentamicin resistant *Escherichia coli* strains from food animals and humans. **Vet Microbiol.** 156: 110-118.
- Tóth, I., Schmidt, H., Kardos, G., Lancz, Z., Creuzburg, K., Damjanova, I., Pászti, J., Beutin, L., Nagy, B. (2009) Virulence genes and molecular typing of different groups of *Escherichia coli* O157 strains in cattle. **Appl. Environ. Microbiol.** 75., 6282-6291

## CSÍRÁZÁSTÓL A KALÁSZOLÁSIG – A BÚZA FEJLŐDÉSÉNEK GENETIKÁJA ÉS FIZIOLÓGIÁJA

KARSAI ILDIKÓ<sup>1</sup>, KISS TIBOR<sup>1</sup>, VEISZ OTTÓ<sup>1</sup>,  
SOLTÉSZ ALEXANDRA<sup>2</sup>, GALIBA GÁBOR<sup>2</sup>, SIMON GRIFFITHS<sup>3</sup>

<sup>1</sup>MTA Agrártudományi Kutatóközpont  
Mezőgazdasági Intézet, Kalászos Gabona Rezisztencia Nemesítési Osztály  
2462 Martonvásár, Brunszvik u. 2.

<sup>2</sup>MTA Agrártudományi Kutatóközpont  
Mezőgazdasági Intézet, Növényi Molekuláris Biológia Osztály  
2462 Martonvásár, Brunszvik u. 2.

<sup>3</sup>John Innes Centre, Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UH, UK  
karsai.ildiko@agrar.mta.hu

### Összefoglaló

Az ADAPTAWHEAT (EU-FP7-289842; 2012-2015) integrált projekt fő célkitűzése a globális klímaváltozás negatív hatásaként jelentkező termésveszteségek kiküszöbölésére való felkészülés a búza egyedfejlődési fázisaiban és kalászos idejében mutakozó variabilitás genetikai és fiziológiai alapjainak minél részletesebb feltárása révén. A jelenleg is folyó kutatásokban meghatározzuk, hogy a búza különböző egyedfejlődési fázisai mennyiben függenek a genetikai háttértől és a környezeti tényezőktől több termőhelyes és több évjáratos szántóföldi, valamint kontrollált klímakamrás kísérletek beállításával. A vizsgálatok kiterjednek részletes genomikai, molekuláris genetikai, fiziológiai, valamint agronómiai fenotipizálásra. Meghatározzuk a főbb egyedfejlődési gének szerepét az adaptációban és a termésképzésben; feltárjuk a különböző genetikai komponensek közti kölcsönhatás rendszert; vizsgáljuk, hogy az egyes fejlődési fázisok hossza milyen hatással van a szemtermés különböző komponensére. Megállapítjuk, hogy mindezen folyamatokat hogyan befolyásolják a különböző környezeti tényezők. Az eredmények hozzájárulnak az egyedfejlődés genetikai és fiziológiai alapjainak a feltáráshoz, a növekedési modellek pontosításához, valamint új nemesítési stratégiák kialakításához is.

### Bevezetés

A pályázat keretében tanulmányozzuk, hogyan lehet a búza virágzási idejében megnyilvánuló variabilitást hasznosítani a termőhelyi adaptáció és termőképesség optimalizálására irányuló nemesítési erőfeszítésekben. A pályázat során nemcsak a virágzási idő genetikai variabilitását vizsgáljuk, hanem a csírázástól virágzásig terjedő szakasz különböző és egymást követő fejlődési fázisainak kezdetét és intervallumát és az ezekben mérhető genetikai variabilitást is meghatározzuk. Vizsgáljuk a fejlődési fázisok és a termőképesség közti összefüggést eltérő ökológiai feltételek között. Precíz, egyedfejlődési fázis specifikus genetikai alapanyagokat vonunk részletes genetikai vizsgálatokba, valamint részletes fenotípusos jellemzésnek vetjük alá molekuláris biológiai, fiziológiai, és agronómiai szinten. Az agronómiai vizsgálatok kivitelezésére számos termőhelyen kerül sor párhuzamosan, Európa főbb regionális búzatermesztő körzeteiben. Az egyes környezeti tényező és az egyedfejlődés közti specifikus kölcsönhatásokat kontrollált klímakamrás kísérletekben tanulmányozzuk. Az összegyűjtött információk hozzájárulnak a búza virágzás és termésképzés genetikai modelljének pontosításához, valamint specifikus búza variánsok azonosításához, amelyek az európai búzanemesítők által a nemesítésben közvetlenül felhasználhatók. A projekt során új diagnosztikai markereket fejlesztünk ki a genotipizálás hatékonyságának növelésére, valamint új szelekciós stratégiák kidolgozására. A hatékony nemesítési programok kidolgozásához rendelkezésre bocsátjuk az egyedfejlődés fiziológia és



genomika kombinációjából származó ismeretanyagokat. A kutatómunka rövid távon élelmiszerbiztonsági szempontból fontos, hosszú távon megalapozza a búza termőképességének további növelésének genetikai alapjait.

### Anyag és módszer

Vizsgálatainkba többféle genetikai anyagot vontunk: (1) egy 272 vonalból álló kétszülős térképező RIL populációt, amely az extra korai kalászos Mv Toborzó és a késői Mv Verbunkos fajták keresztezéséből származik, (2) 188 különböző eredetű búzafajtából álló gyűjteményt, valamint (3) több genetikai populáció szülői partnereit, és egyéb, a génbanki gyűjteményünkből származó és különböző adaptációs típust képviselő 21 búzafajtát. A kétszülős térképező populáció molekuláris genetikai térképét, valamint a 188 fajta gyűjtemény LD térképét nagy hatékonyságú molekuláris markerekre és az egyedfejlődés szabályozásában szerepet játszó főbb génekhez köthető funkcionális markerekre alapozva hoztuk létre.

A 21 különböző adaptációs típust képviselő búzafajtát kontrollált klímakamrás kísérletbe vontuk, ahol vizsgáltuk a fajták egyedfejlődését két nappalhossz (16 órás és 12 órás) és három környezeti hőmérséklet szint (11°C, 18°C és 25°C) faktoriális elrendezésében. A vizsgálatok kiterjedtek a tenyészőcsúcs fejlődésének nyomon követésére, a főbb egyedfejlődési gének expressziós mintázatának meghatározására és a részletes egyedfejlődési mintázat vizsgálatára is. A kétszülős és a sokfajta térképező populációkat szántóföldi kisparcellás kísérletekbe vontuk, amelynek során részletesen meghatározzuk az egyes fejlődési fázisokat, azok intervallumát, valamint ezek kapcsolatát a terméskomponensekkel, mérve a genotípus  $\times$  egyedfejlődési gén allélok  $\times$  évjárat  $\times$  termőhely kölcsönhatás rendszerét. Kísérleteink kiterjedtek a vernalizációs igény meghatározására szántóföldi körülmények között, 0, 30, 45 és 60 napos mesterséges vernalizációs kezelést követően. A fajták nappalhossz-érzékenységét és a szűkebb értelemben vett koraiságukat fitotroni kísérletben vizsgáltuk, mérve a kalászos idejüket 16 órás (hosszú nappalhossz) és 9 órás (rövid nappalhossz) megvilágításokon.

A különböző környezetben vizsgált egyedfejlődési mintázatokat, termőképességet és adaptációs képességet meghatározó genetikai komponensek azonosítása a kétszülős populáció esetében a marker kapcsoltsági térképen lefuttatott QTL elemzések alapján, míg a sokfajta populáció esetében a populáció struktúra megállapítását követően a teljes genomra kiterjedő asszociációs elemzések alapján történik.

### Eredmények és következtetések

A „90K Illumina genotyping platform” alkalmazásával elkészítettük a Toborzó  $\times$  Verbunkos RIL populáció marker kapcsoltsági térképét, amely 6054 SNP markerből áll és 3589 cM lefedettségű, 0,6 cM-os átlagos marker sűrűséggel. E populáció esetében a markerek 29,6%-a az A, 61,3%-a a B, míg 9,1%-a a D genomon helyezkedik el. A homeológ kromoszóma csoportok közül az 1 és a 2 csoport lefedettsége a legnagyobb, míg a 4 és a 7 csoport lefedettsége a legkisebb.

A 188 búzafajta genetikai jellemzésére a nagyhatékonyságú DArT marker rendszert alkalmaztuk. A fajták között 1642 DArT marker bizonyult polimorfnak, amelyből 970 marker kromoszómális elhelyezkedése ismert. A 188 fajtakör határozott struktúrával rendelkezik, 4 alcsoport jelenlétét mutattuk ki. Ezek az alcsoportok szoros egybeesést mutattak a rokonsági adatmátrix alapján szerkesztett dendrogrammal; csak az esetek 12,2%-ban volt eltérés e két értékmérő között. A populáció struktúra szoros korrelációban állt a fajták földrajzi származásával ( $r = -0,54^{***}$ ). Az 57 fajtát tartalmazó 1. klaszter az amerikai és ázsiai búzafajták döntő többségét foglalja magába, valamint az európai fajták közül a közép-európai és az olasz fajták egy részét. A 2. klaszter 54 fajtájának jelentős hányada közép-európai fajta. A 31 fajtából álló 3. klaszterre a dél-európai és magyar fajták a jellemzőek, míg a 4. klaszter 41 fajtája két kivétellel Nyugat-Európából származik.

Vernalizáció nélkül a fajták 56,4%-a vegetatív fázisban maradt, de már 30 napos vernalizáció elegendő volt ahhoz, hogy minden fajta kikalászosjon. A 30 napnál hosszabb idejű

vernalizációs kezelések a fajták átlagában kisebb, de szignifikáns mértékben tovább rövidítették a kalászosolási időt. A kalászosolási átlag érték 30 napos vernalizációt követően 68,1 nap, 45 napos vernalizáció után 65,7 nap, míg 60 napos vernalizáció után 63,7 nap volt. A fajták vernalizációs idő függvényében mutatott kalászosolási idejében azonban jelentősebb fajtafüggő variabilitás volt megfigyelhető, amelyet a magasan szignifikáns fajta  $\times$  vernalizációs idő kölcsönhatás jelzett.

A vernalizációs igény mellett meghatároztuk a fajták nappalhossz-érzékenységét is kontrollált klímakamrás kísérletben. A nappalhossz szignifikánsan befolyásolta a búzafajták kalászosolási idejét. Hosszú nappalon minden fajta kikalászolt, az átlagos kalászosolási idő 45,2 nap volt, 30,0 és 64,0 napos intervallummal. Rövid nappalon azonban a fajták 44,7%-a nem kalászolt ki. A kikalászolt fajták átlaga 79,7 nap volt, 51,7 és 119,7 napos intervallummal. A fajták vernalizációs igénye és nappalhossz érzékenysége között nem volt összefüggés ( $r = -0,08$ ; nem szignifikáns).

A 188 búzafajta szántóföldi kispárcellás vetésidő kísérletében mért morfológiai tulajdonságok és a terméskomponensek közül a genotípus szerepe különösen a főhajtás tulajdonságaiban bizonyult jelentősnek (1. táblázat), így a genotípus szerepe volt a legerősebb a kalász sűrűség, az utolsó szártag hossz, a kalászhossz, valamint a főkalász szemszámának kialakításában. A vetésidő főleg a növénymagasságra, a produktív oldalhajtások számára, a mellékalászkok szemszámára és súlyára és ezen keresztül a növényenkénti szemtermésre volt a legnagyobb hatással. A főkalász kalászkáiban lévő szemszámot, valamint a kaláskonkénti átlagos szemszámot a genotípus  $\times$  vetésidő kölcsönhatás befolyásolta a legnagyobb mértékben. A két őszi vetés között a vizsgált tulajdonságok nagyobb részében nem volt szignifikáns különbség, ez alól jelentős kivételt a produktív oldalhajtások száma jelentett, amely az első vetésben volt szignifikánsan a legmagasabb. Ez együtt járt a szignifikánsan nagyobb mellékalász szemszámmal és a nagyobb növényenkénti szemterméssel is. A tél végi vetésidő eredményezte a legalacsonyabb növényeket, ennek ellenére az ebben a vetésidőben kapott termés komponensek és így a szemtermés mennyisége sem tértek el jelentősen a 2. vetésidőben mért átlagértékektől.

**1. táblázat.** A genotípus és a vetésidő hatása a különböző terméskomponensekre a 188 búzafajta körben (Martonvásár, 2012-13)

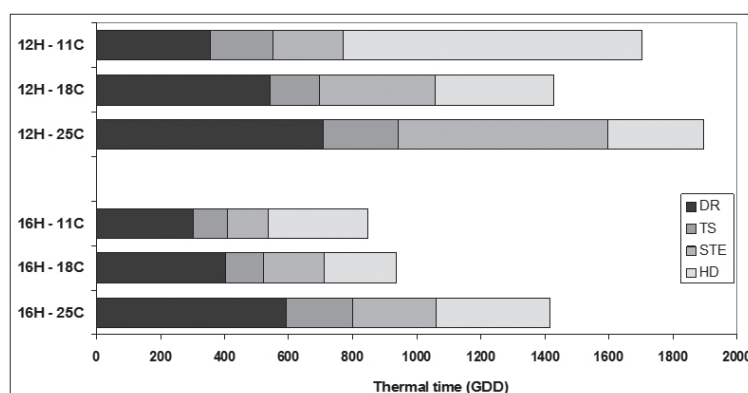
Tulajdonság	Kétféle ANOVA SS (%)				1. vetés 10. 15.	2. vetés 11. 15.	3. vetés 02. 21.	SzD 25%
	Fajta (A)	Vetésidő (B)	(A) $\times$ (B)	Hiba				
Növénymagasság (cm)	39,7	<b>41,0</b>	14,0	5,3	72,7	62,4	48,6	5,3
Utolsó szártag hossz (cm)	<b>53,7</b>	5,7	28,1	12,6	27,9	27,5	24,2	3,3
Kalászhossz (főkalász cm)	<b>51,6</b>	11,1	26,2	11,0	9,4	8,5	8,1	0,5
Kalászkák szám (főkalász db)	<b>38,8</b>	20,9	30,1	10,2	21,3	19,2	17,4	0,9
Kalász sűrűség (főkalász)	<b>56,8</b>	2,8	30,8	9,7	2,3	2,3	2,1	0,3
Főkalász szemszám (db)	<b>45,8</b>	4,7	36,0	13,5	51,9	50,9	46,2	4,8
Szemszám / kalászkák (főkalász)	38,9	2,4	<b>44,6</b>	14,1	2,5	2,6	2,6	0,4
Főkalász szemsúly (g)	<b>36,7</b>	28,6	25,3	9,4	2,3	2,2	1,6	0,3
Főkalász ezerszem tömeg (g)	<b>44,4</b>	32,9	18,3	4,5	44,5	44,4	33,6	5,1
Produktív oldalhajtások (db)	24,7	<b>39,5</b>	25,2	10,6	7,0	4,0	4,2	1,2
Mellékalászkok szemszáma (db)	22,4	<b>46,6</b>	23,3	7,7	282,8	148,4	140,5	55,2
Átlagos szemszám / kalász (db)	36,5	15,9	<b>38,3</b>	9,3	40,4	36,9	31,5	6,9
Mellékalászkok szemszáma (g)	21,7	<b>52,3</b>	20,3	5,8	11,8	6,1	4,5	2,5
Átlagos ezerszem tömeg (g)	<b>38,3</b>	36,8	20,3	4,5	41,6	41,5	29,8	3,3
Szemtermés / növény (g)	23,3	<b>51,3</b>	20,2	5,2	14,1	8,4	6,1	2,7

Az eltérő adaptációs típust képviselő búzafajták kontrollált klímakamrás kísérletében megállapítottuk, hogy a terminális kalászká képződéséig a genotípus, míg a későbbi fejlődési stádiumokban a hőmérséklet, a nappalhossz és e két tényező kölcsönhatása képezte a legnagyobb szignifikáns varianciakomponenst (2. táblázat).

**2. táblázat.** Nappalhossz és a környezeti hőmérséklet egyedfejlődési fázisokra kifejtett hatásának variancia analízise 21 búzafajta kontrollált klímakamrás kísérletében

Variancia-komponens (%)	Kettős gyűrű (DR)	Terminális kalászká (TS) – (DR)	Szár növekedés (STE) – (TS)	Kalászolás (HD) – (STE)
Hőmérséklet (H)	15.2***	9.1**	14.1***	11.3***
Nappalhossz (N)	2.3	4.1*	12.6***	7.3**
Genotípus (G)	42.7**	33.8***	16.8	17.9
(H) × (N)	0.3	1.2	4.1*	10.8***
(H) × (G)	14.8	38.3***	18.7	20.1
(N) × (G)	14.3	4.9	16.8	11.5
(H) × (N) × (G)	10.4	8.6	16.9	21.1

A fajták átlagában a növényfejlődés hosszú nappalon (16 órás megvilágítás) volt a leggyorsabb. Ezen a nappalhosszon egy adott fejlődési stádium eléréséhez szükséges hőegység fokozatosan növekedett a magasabb környezeti hőmérsékleteken, és ez a növekedés arányos maradt az egyedfejlődés teljes hosszában. Rövid napos (12 órás) megvilágítás esetében a hőegység környezeti hőmérséklet függő arányos növekedése csak a terminális kalászká képződéséig volt kimutatható; az apex fejlődés csak 18°C-on volt teljes. Ennél magasabb vagy alacsonyabb hőmérsékleten az apex fejlődése jelentős mértékben lelassult, de ez eltérő fázisban következett be. Míg a 11°C-os hőmérsékleten az intenzív szárnövekedés kezdete és a kalászolás közti időszak nőtt meg jelentősen, addig 25°C-on a legnagyobb késedelem a terminális kalászká képződése és az intenzív szárnövekedés kezdete között lépett fel (1. ábra).



**1. ábra.** Nappalhossz és a környezeti hőmérséklet egyedfejlődési fázisokra kifejtett hatása 21 búzafajta átlagában kontrollált klímakamrás kísérletében

### Köszönetnyilvánítás

A kutatást az ADAPTAWHEAT (EU-FP7-289842) és az EU\_BONUS\_12-1-2012-0024 pályázatok támogatták.

**A pályázati eredményekből eddig megjelent publikációk**

- Gulyás Z., Boldizsár Á., Novák A., Szalai G., Pál M., Galiba G., Kocsy G. (2014): Central role of the flowering repressor ZCCT2 in the redox control of freezing tolerance and the initial development of flower primordia in wheat. **BMC Plant Biology**, 14:91. IF2013: 3,942
- Kiss, T, Balla, K, Veisz, O, Láng, L, Bedő, Z, Griffiths, S, Isaac, P, Karsai, I (2014) Allele frequencies in the VRN-A1, VRN-B1 and VRN-D1 vernalization response and PPD-B1 and PPD-D1 photoperiod sensitivity genes, and their effects on heading in a diverse set of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). **Molecular Breeding**, 34:297–310. IF13: 2.29
- Kocsy G., Tari I., Vanková R., Zechmann B., Gulyás Z., Poór P., Galiba G. (2013):Redox control of plant growth and development. **Plant Sci.**, 211: 77-91. IF: 4,114
- Vágújfalvi A., Soltész A., Bálint A.F., Vashegyi I., Tóth B., Kocsy G., Galiba G. (2012): Different approaches involving testing methods, gene mapping and transformation reveal new insights into cereal frost tolerance. **ActaAgron.Hung.**, 60.167-182.

## A KUKORICAMOLY GAZDANÖVÉNYVÁLTÁSÁNAK NEUROETOLÓGIAI VIZSGÁLATA

KÁRPÁTI ZSOLT

MTA Agrártudományi Kutatóközpont  
Növényvédelmi Intézet, Állattani Osztály  
1525 Budapest, Pf. 102.  
karpati.zsolt@agrar.mta.hu

### Összefoglaló

A Marie Curie Career Integration Grant (FP7-PEOPLE-2012-CIG) támogatásával 2013-14 között sikerült a kukoricamoly (*Ostrinia nubilalis*) tápnövényeiből származó, a kukoricamoly számára fontos illékony anyagok meghatározását elkezdni. A kutatás célja az, hogy megértsük a rovarok szaglásának neuroetológiai és evolúciós hátterét amihez a kukoricamolyt, mint modellfajt használtam fel. A vizsgálatok során sikerült nyílt rendszerű illatanyaggyűjtő berendezéssel a kukorica (*Zea mays* Pioneer P9578), a vadkomló (*Humulus lupulus*) és a feketeüröm (*Artemisia vulgaris*) zárt légtéréből illatmintákat gyűjteni. A minták gázkromatográffal egybekötött elektroantennográffal történő elemzése során sikerült olyan komponenseket találni, melyek aktivitást mutattak a párosodott, Z vonalhoz tartozó kukoricamoly nőtények csápján. Feltételezhetően ezek a komponensek vesznek részt a faj párosodás után történő potenciális tápnövény kiválasztásában. Következő lépésként meghatározom ezeknek az anyagoknak a pontos kémiai szerkezetét gázkromatográffal egybekötött tömegspektrométer segítségével, majd viselkedési vizsgálatokat fogok elvégezni a meghatározott anyagokkal és keverékekkel mind laboratóriumban, mind szabadföldön. Ezt követően megkísérlem feltérképezni az illatanyagok felfogásáért felelős receptor neuronok útját az elsődleges szagló központban összehasonlítva a kukoricamoly két vonalát. A munka során elért eredmények hozzásegíthetnek egy új, nőtény lepkéket is vonzó, környezetbarát monitorozási módszer kifejlesztéséhez.

### Bevezetés

Az ízeltlábúak közül a rovarok osztálya a legfajgazdagabb csoport az állatvilágban, gyakorlatilag nincs olyan szárazföldi niche melyet ne hódítottak volna meg. Felülmúlhatatlan alkalmazkodóképességük az, ami a rovarok ilyen szintű evolúciós sikeréhez vezetett. Ez a gyors adaptációs készség hozzásegíti a rovarokat ahhoz, hogy az ember által kialakított agroökológiai területekre is viszonylag rövid idő alatt betörjenek és látványos károkat okozzanak. Mivel a rovarok számára az egyik legfontosabb érzékelési mód a szaglás, ezért az itt bekövetkező változás magában hordozza az adaptív radiáció és a fajképződés lehetőségét (*Smadja és Butlin 2009*). Bár a szaglás preferenciájának változása régóta ismert, ennek neuroetológiai hátterének kutatásával eddig kevesen foglalkoztak.

A kukoricamoly (*Ostrinia nubilalis* – *Hübner, 1796*), ami a kukorica egyik legfontosabb kártevője, iskolapéldája a feromon-polimorfizmusnak. A faj két feromonvonalra oszlik. A Z-vonal nőtényei (Z)11-tetradecenil-acetátot (Z11-14:Ac) és (E)11-tetradecenil-acetátot (E11-14:Ac) termelnek 97:3 arányban, ugyanakkor az E-vonal nőtényei közel fordított arányban (1:99) termelik a két komponenst (*Klun és Robinson 1971, Klun és mtsai. 1973, Anglade és mtsai. 1984*). Szimpatrikus populációk esetében a két vonal csak nagyon kis mértékben kereszteződik (*Cardé és mtsai. 1978, Malausa és mtsai. 2005*). A nőtények feromontermelése autoszomális génhez kötött, ugyanakkor a hímek feromon-felfogását és az arra adott viselkedési választ egy szexkromoszómához kötött gén irányítja (*Roelofs és mtsai. 1987*) (*Dopman és mtsai. 2004, 2005, 2010; Kárpáti és mtsai. 2010, Olsson és mtsai. 2010*). A faj a kémiai ökológusok régóta kedvelt



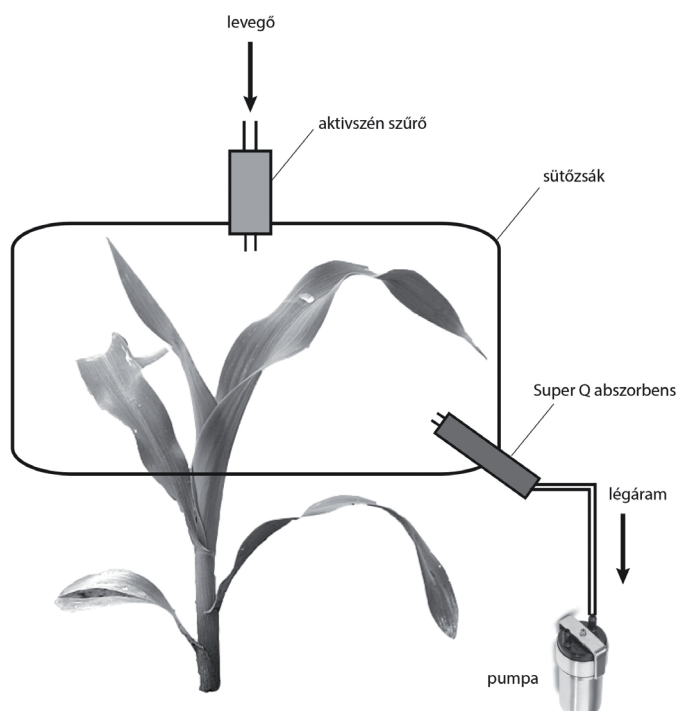
kutatási témája, különösen azóta, mióta kiderült, hogy a két vonal tápnövény-preferenciája is különböző. Az E-vonal elsősorban a komlót (*Humulus lupulus*) és a feketeürömöt (*Artemisia vulgaris*) támadja, míg a Z-vonal áttért a kukoricára (*Zea mays*), mely a XVI. században került bevezetésre Európában (*Malausai és mtsai. 2007, Pelozuelo és mtsai. 2004*). A kukoricamoly tápnövényváltása szemléletes példa arra, hogy az ember által létrehozott agroökológiai nicheket hogyan töltik be új fajok.

Eddig még ismeretlen a kukoricamoly szaglászmechanizmusában bekövetkezett változás, mely során a faj az ősi tápnövényekről átváltott a kukoricára. Munkám hosszútávú célja az, hogy a kukoricamoly - mint példafaj - segítségével megértsük a rovarok szaglásának neuroetológiai és evolúciós hátterét. Ezzel párhuzamosan a gazdanövényváltás mechanizmusának feltárása magába foglalja olyan, a tápnövényekből származó illatanyagok azonosítását, melyek a nőtény lepkék vonzására is alkalmasak lehetnek, ezáltal új utat nyitva a faj környezetbarát monitorozásához. Munkám folytatásaként célokom az, hogy a tápnövényváltás szaglászmechanizmusának egyes elemeit multidiszciplináris megközelítéssel (elektrofiziológia, kémiai analízis, periférikus neurofiziológia, neuroanatómia és viselkedési vizsgálatok) tárjam fel.

### Anyagok és módszerek

Az **illatanyaggyűjtés** során a kukorica, komló és feketeüröm zöld leveles részeire kereskedelembe kapható sütőzsákot (AluFix Ungarn Ipari Kft.) húztam, majd a növények által légtérbe kibocsátott illatanyagokat 30 mg Super-Q (Alltech<sup>TM</sup>) abszorbenssel kötöttem meg aktív légáram segítségével, amelyet egy pumpa (THOMAS Elektro Schwerin GmbH, model: G 12/02 EB) biztosított. A sütőzsákba aktív szénen szűrt levegő áramlott be annak érdekében, hogy kívülről semmiféle külső illatanyag ne juthasson a rendszerbe. A légáramlás sebessége 0,9 l/perc volt, a gyűjtést 4 órán keresztül végeztem (*1. ábra*). Az abszorbens által összegyűjtött illatanyagokat 200 µl n-hexánnal eluáltam. Az így elkészített kivonatot -40 °C-on tároltam.

**Gázkromatográffal egybekötött elektroantennográf** (GC-EAD) segítségével vizsgáltam tovább a különböző tápnövényekből elkészített kivonatokot annak érdekében, hogy megtudjam melyek azok a komponensek, amelyek aktivitást mutatnak a lepke csápján. A mérésekhez 2 napos, párosodott, Z-vonalhoz tartozó nőtények izolált csápját használtam fel. Mind az alapi, mind a csáp végét két ringer oldattal töltött üvegapilláris közé fogtam be. Az üvegapillárisok másik vége ezüstelektróddal állt kapcsolatban, ami továbbította az ingerületet az erősítő felé. A csáp felpreparálását és rögzítését mikromanipulátorok segítségével végeztem (Ockenfels Syntech GmbH). Az erősítóből érkező jelet digitális konvertálás után számítógép rögzítette. A csápot a mérés során folyamatosan nedvesített légáramba (1 l/perc) helyeztem, majd a gázkromatográfból érkező illatanyagok ebbe a légáramba jutottak be. Annak érdekében, hogy a csáp fiziológiai állapotáról megbizonyosodjak pozitív kontrollként egy általános növényi illatanyagot, a fenil-acetaldehidet (CAS: 122-78-1, Sigma-Aldrich 95% tisztaság) használtam 10 ng-os dózisban. Ez a vegyület egy általánosságban előforduló virágillatanyag, amelyre a rovarok nagy része válaszol (*Cantelo és Jacobson 1979, Creighton és mtsai. 1973, Tóth és mtsai. 2010*). A mérésekhez Agilent 6890N gázkromatográfot (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) használtam, amely egy HP-5-ös kapilláris oszloppal volt felszerelve (30 m×0,32 mm×0,25 µm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA). A minták vizsgálatához „on-column” injektálási módszert használtam, a kolonnatér hőmérséklete a következőképp volt programozva: 50 °C-on 1 percig, majd 10 °C/perccel 230 °C-ig. A vívógáz hélium volt, melynek áramlási sebessége 2,9 ml/percre lett beállítva.

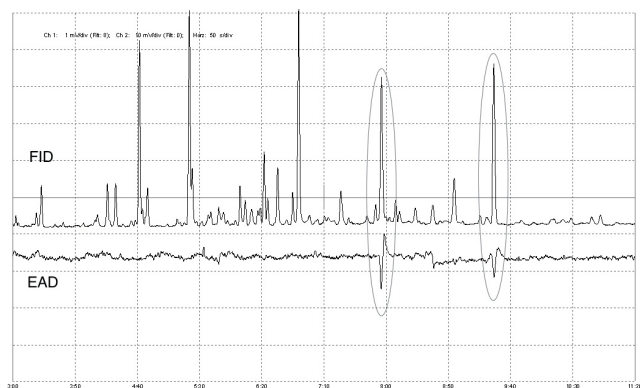


1. ábra. Nyílt rendszerű illatanyaggyűjtő berendezés sematikus ábrája. Kereskedelmi forgalomban kapható sütőzsák veszi körül a kukoricanövényt. Az ebbe beáramló levegőt aktív szén szűri meg. A növény által légtérbe kibocsátott illatanyagokat SuperQ abszorbens köti meg. Az abszorbensen történő levegő átáramlását pumpa biztosítja. A légáramlás irányát a fekete nyíl jelzi.

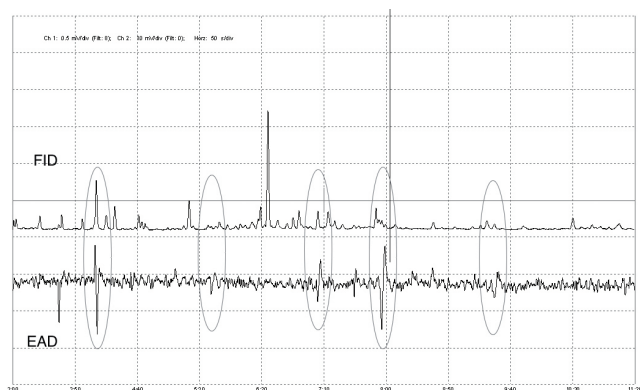
### Eredmények és következtetések

A kukoricamoly különböző tápnövényei által légtérbe kibocsátott illatanyagokat sikerült összegyűjteni, majd ezekkel a kivonatokkal elektrofiziológiai (GC-EAD) vizsgálatokat végezni annak érdekében, hogy megtudjuk, pontosan melyek azok az aktív illatanyag komponensek a kivonatban, amelyekre a lepke csápja pozitív választ ad.

A mérések során sikerült a Z vonalhoz tartozó nőtényi lepkék csápjával megállapítani azoknak a komponenseknek a retenciós idejét, melyek biológiai aktivitást mutattak. A különböző tápnövényekből származó kivonatok más-más illatkomponenseket tartalmaztak, ezáltal a csáp is más-más komponensekre válaszolt. Mindebből arra következtethetünk, hogy a különböző növények illatanyag-összetétele másként hat a nőtényekre, ezáltal jobban, vagy kevésbé vonzza őket. A kukoricából származó illatanyag kivonatból 2 aktív komponenst találtam, melyek retenciós ideje 7,94 és 9,26 perc (2. ábra). A komlóból származó illatanyagok közül 5 bizonyult aktívnak, melyek retenciós ideje: 4,10, 5,39, 7,08, 7,94 és 9,26 perc (3. ábra). A számokból is jól látszik, hogy átfedés van a különböző tápnövényekből származó kivonatok komponensei között a kukorica és a komló esetében. Valószínűleg ezek a komponensek és a megfelelő arányú keverékük vesznek részt a nőtények tápnövényválasztásában ahol is nem csak a komponensek jelenléte, hanem azok egymáshoz viszonyított aránya is fontos. A következő munkafázis az, hogy ezen komponensek kémiai szerkezetét meghatározzam gázkromatográffal egybekötött tömegspektrométer (GC-MS) segítségével. Az így meghatározott komponensek keverékeivel viselkedési vizsgálatokat fogok elvégezni, annak érdekében, hogy megtudjam, melyek azok a komponensek és keverékeik amelyek vonzó hatást gyakorolnak a nőtényekre illetve fontos szerepet játszanak a nőtények tápnövényre való repülése és a tojásrakási hely kiválasztása során.



2. ábra. Gázkromatográffal egybekötött elektroantennográfiás mérés Z-vonalhoz tartozó nőstény kukoricamoly csápján. A felső görbe a kukoricából származó, gázkromatográffal szétválasztott komponensek lángionizációs detektor (FID) által kimutatott kromatogramját mutatja. Az alsó görbén a kukoricamoly nőstény csápjja a két bekarikázott ismeretlen anyagra válaszolt 2 ismétlésben (EAD).



3. ábra. Gázkromatográffal egybekötött elektroantennográfiás mérés Z-vonalhoz tartozó nőstény kukoricamoly csápján. A felső görbe a komlóból származó, gázkromatográffal szétválasztott komponensek lángionizációs detektor (FID) által kimutatott kromatogramját mutatja. Az alsó görbén a kukoricamoly nőstény csápjja az öt bekarikázott ismeretlen anyagra válaszolt 2 ismétlésben (EAD).

## Köszönetnyilvánítás

Munkámat a Marie Curie IEF-255193, az OTKA PD 1041310 pályázat és az MTA Bolyai János kutatási ösztöndíj támogatta.

## Irodalom

- Anglade P., Stockel P., IWGO Cooperators (1984) Intraspecific sex-pheromone variability in the European cornborer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lepidoptera, Pyralidae). **Agronomie** 4: 183-187.
- Cantelo W. W. és Jacobson M. (1979) Phenylacetaldehyde attracts moths to bladder flower and to blacklight traps. **Environmental Entomology** 8: 444-447.
- Cardé R. T., Roelofs W. L., Harrison R. G., Vawter A. T., Brussard P. F., Mutuura A., Munroe E. (1978) European corn borer: Pheromone polymorphism or sibling species? **Science** 199: 555-556.
- Creighton C. S., McFadden T. L., Cuthber E. R. (1973) Supplementary data on phenylacetaldehyde: an attractant for Lepidoptera. **J. Econ. Entomol.** 66: 114-115.

- Dopman E. B., Bogdanowicz S. M., Harrison R. G. (2004) Genetic mapping of sexual isolation between E and Z pheromone strains of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*). **Genetics** 167: 301-309.
- Dopman E. B., Perez L., Bogdanowicz S. M., Harrison R. G. (2005) Consequences of reproductive barriers for genealogical discordance in the European corn borer. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 102: 14706-14711.
- Dopman E. B., Robbins P. S., Seaman A. (2010) Components of reproductive isolation between north American pheromone strains of the European corn borer. **Evolution** 64: 881-902.
- Kárpáti Z., Olsson S., Hansson B. S., Dekker T. (2010) Inheritance of central neuroanatomy and physiology related to pheromone preference in the male European corn borer. **BMC Evol. Biol.** 10: 1-12.
- Klun J. A., Chapman O., Mattes J. C., Wojtkowski P. W., Beroza M., Sonnett P. E. (1973) Insect sex pheromones: minor amount of opposite geometrical isomer critical to attraction. **Science** 181: 661-663.
- Klun J. A., Robinson J. F. (1971) European corn borer moth: Sex attractant and sex attraction inhibitors. **Ann. Entomol. Soc. Am.** 64: 1083-1086.
- Malausa T., Bethenod M.-T., Bontemps A., Bourguet D., Cornuet J.-M., Ponsard S. (2005) Assortative mating in sympatric host races of the European corn borer. **Science** 308: 258-260.
- Malausa T., Leniaud L., Martin J. F., Audiot P., Bourguet D., Ponsard S., Lee S. F., Harrison R. G., Dopman E. (2007) Molecular differentiation at nuclear loci in French host races of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*). **Genetics** 176: 2343-2355.
- Olsson S. B., Kesevan S., Groot A. T., Dekker T., Heckel D. G., Hansson B. S. (2010) *Ostrinia* revisited: Evidence for sex linkage in European Corn Borer *Ostrinia nubilalis* (Hubner) pheromone reception. **BMC Evol. Biol.** 10: 1-12.
- Pelozuelo L., Malosse C., Genestier G., Guenego H., Frerot B. (2004) Host-plant specialization in pheromone strains of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* in France. **J. Chem. Ecol.** 30: 335-352.
- Roelofs W. L., Glover T. J., Tang X.-H., Robbins P. S., Löfstedt C., Hansson B. S., Bengtsson B. O., Sreng I., Eckenrode C. J. (1987) Sex pheromone production and perception in European corn borer moths is determined by both autosomal and sex-linked genes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 84: 7585-7589.
- Smadja C. és Butlin R. K. (2009) On the scent of speciation: the chemosensory system and its role in premating isolation. **Heredity** 102: 77-97.
- Tóth M., Szarukán I., Dorogi B., Gulyás A., Nagy P., Rozgonyi Z. (2010) Male and Female Noctuid Moths Attracted to Synthetic Lures in Europe. **J. Chem. Ecol.** 36: 592-598.

## AKVAKULTÚRA INFRASTRUKTÚRÁK AZ EURÓPAI HALÁSZATI KUTATÁSOK KIVÁLÓSÁGÁRA

### AQUACULTURE INFRASTRUCTURES FOR EXCELLENCE IN EUROPEAN FISH RESEARCH (AQUAEXCEL) PROJEKT BEMUTATÁSA

*JENEY GALINA, ARDÓ LÁSZLÓ, JENEY ZSIGMOND*

*Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ  
Halászati Kutatóintézet (NAIK HAKI)  
5540 Szarvas, Anna liget 8.  
jeneyg@haki.hu, ardol@haki.hu, jenez@haki.hu*

Az Aquaexcel 48 hónapos infrastruktúra-fejlesztési projekt 2011. március 1-jén indult FP7 keretprogram keretében (FP-7-INFRASTRUCTURES-2010-1), a projekt azonosító száma: 262336.

Az AQUAEXCEL projekt célja, hogy koordinálja a legmodernebb európai akvakultúra kutatási egységeket, lefedve a teljes skálát a termelési rendszerek (recirkulációs, átfolyó vizes, ketreces rendszerek, keltetők és tavi rendszerek), a termelési környezetek (édesvízi és sósvízi, hideg és meleg vizes), a méretek (kisparcellás, közepes és ipari méret), halfajok (lazac, pisztráng, tengeri sügér és tengeri keszeg, tőkehal, ponty), és a szakterületek (táplálkozás élettan, élettan, egészség és haljólét, genetika, a technológiák monitoringja és menedzsmentje, és a műszaki fejlesztés) vonatkozásában.

#### A projekt résztvevői

Franciaország	Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER) Inra Transfert S.A. (IT)
Norvégia	Institute for Marine Resources and Ecosystem Studies (IMARES) Norwegian University of Science and Technology (NTNU) Institute of Marine Research (IMR) SINTEF Fiskeri og havbruk AS (SINTEF)
Nagy-Britannia	Stirling University (UoS)
Spanyolország	Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC)
Hollandia	Wageningen Universiteit (WU) Institute for Marine Resources and Ecosystem Studies (IMARES)
Görögország	Hellenic Centre for Marine Research (HCMR)
Csehország	University of South Bohemia (VURH)
Belgium	University of Ghent (UGent)
Írország	AquaTT TT
Magyarország	Halászati és Öntözési Kutatóintézet, NAIK HAKI



Az AQUAEXCEL projekt keretében végzett munka azért lényeges, mert lehetővé teszi az akvakultúra-kutatás fejlesztését az Európai Unióban. Valamennyi, az EU-ban alkalmazott akvakultúra-rendszer és tenyésztett halfaj szerepel az AQUAEXCEL-ben. Az AQUAEXCEL célja a különböző infrastruktúrák közötti együttműködés lehetőségének megteremtése, illetve egy közös gondolkodásmód és kutatásszervezés kifejlesztése, amely lehetővé teszi az EU-ban folytatott, széttagolt, halfajokra koncentrált akvakultúra-kutatás átalakítását. Az AQUAEXCEL egyedi infrastruktúrájának nemzetközi hozzáférhetősége pedig segítséget nyújt az új kutatócsoportok számára ahhoz, hogy az akvakultúra számára fontos halfajokkal színvonalas kutatómunkát végezzenek. Ezen kívül lehetőség van új együttműködések kialakítására vagy a már meglévők továbbfejlesztésére, amelyek az AQUAEXCEL projekt befejezése után is fennmaradhatnak. Egy másik előny az új módszerek és eszközök kifejlesztése, amelyek költséghatékonyabb és alkalmazhatóbb kutatást tesznek lehetővé. Az AQUAEXCEL lényege tehát az EU akvakultúra kutatási kapacitásainak fejlesztése.

### **Miért van szükségünk kutatási infrastruktúrára?**

A kutatóintézetek egyre fontosabb szerepet játszanak a tudás és a technológia fejlesztésében. A kutatóintézetek egyedülálló kutatási lehetőségeket kínálnak a különböző országokból érkező felhasználóknak, vonzóvá teszik a kutatói életpályát a fiatalok számára, és segítik a tudományos közösségek kialakulását. Új tudás és az ennek alkalmazásával megvalósított innováció csak színvonalas és hozzáférhető kutatóintézetek által jöhet létre. Például a sugárforrások, genomikai adatbankok, környezeti megfigyelőhelyek, képzőképző rendszerek a kutatás és innováció alapjait jelentik.

Az FP7 Kapacitások program „Kutatási Infrastruktúra” elemének alapvető célja az Európában meglévő legjobb kutatási infrastruktúrák optimális kihasználása és fejlesztése. Ezen kívül segítséget nyújt új kutatási infrastruktúrák létrehozásához a tudomány és a technológia valamennyi területén. Az európai tudományos közösség számára ezek azért szükségesek, hogy továbbra is a kutatás élvonalában maradjanak, az ipar számára pedig azért, hogy megerősítsék a tudásbázist és a technológiai know-how-t.

### **Az AQUAEXCEL tevékenységi területei**

Az AQUAEXCEL három fő területre koncentrálna a tevékenységét:

1. Nemzetközi hozzáférhetőség [Transnational Access (TNA)]
2. Hálózatépítési tevékenységek [Networking Activities (NA)]
3. Közös kutatási tevékenységek [Joint Research Activities (JRA)]

#### *1) Nemzetközi hozzáférhetőség*

Az AQUAEXCEL nemzetközi hozzáférést biztosít számos kiváló akvakultúra kutatási infrastruktúrához a nemzetközi kutatás és technológia-fejlesztés számára. A kutatók szabadon hozzáférhetnek olyan kutatási infrastruktúrákhoz, amelyek az ő országaikban nem találhatók meg.

#### *2) Hálózatépítési tevékenységek*

Az AQUAEXCEL hálózatépítési tevékenységének célja az együttműködés elősegítése az AQUAEXCEL résztvevői és olyan kutatói közösségek között, akik használják az AQUAEXCEL kutatási infrastruktúráit. Lehetővé teszi a meglévő kutatási infrastruktúra jobb kihasználását, elősegíti az együttműködést a különböző kutatási területeken, rendszerekben, halfajokkal, országokban dolgozó kutatók között.

### *3) Közös kutatási tevékenységek*

Az AQUAEXCEL közös kutatási tevékenységeinek célja az akvakultúra kutatási infrastruktúrák által nyújtott szolgáltatások minőségi és mennyiségi fejlesztése (távirányítás és -monitoring, pontosabb teljesítményértékelés, élő állatok használatának korlátozása, az eredmények ipari léptékű felhasználása, biológiai modellek fejlesztése).

## **Tanfolyamok**

Az AQUAEXCEL négy új technikai tanfolyamot szervezett, amelyek az akvakultúra kutatásának négy különböző területére koncentráltak:

### *1. tanfolyam*

Cím: A recirkulációs akvakultúra rendszerek technológiája

### *2. tanfolyam*

Cím: A genomikai megközelítés szerepe a fenntartható akvakultúra fejlesztésében

### *3. tanfolyam*

Cím: A kromoszómakészlet-manipuláció alkalmazása és az ivarsejtek gyűjtésének és kezelésének fontossága az akvakultúrában

### *4. tanfolyam*

Cím: Új monitoring és vezérlési rendszerek hatékony alkalmazása halakkal végzett kísérletekben

## **Fontosabb eredmények**

### *1) Az európai akvakultúra-kutatás szükségleteinek listája*

Az európai akvakultúra-kutatás szükségleteinek listája egy alapidokumentum, amely a következő kutatási területeket öleli fel: 1. Genetika; 2. Takarmányozás; 3. Élettan; 4. Haljólét; 5. Egészség- és halkórtan; 6. Akvakultúra rendszerek; 7. Környezeti hatások és kapcsolatok; 8. Feldolgozás. A lista felhasználható annak meghatározására, hogy milyen kutatási szükségleteket képesek a meglévő kutatási infrastruktúrák és szolgáltatások kielégíteni, illetve felhasználható a jelenlegi európai kutatóintézetek hiányosságainak azonosítására is.

### *2) Az európai kutatási infrastruktúrák további integrációjának és együttműködésének elősegítése*

Az AQUAEXCEL keretén belül a vezető európai akvakultúra-kutató intézetek erős szövetségét hoztuk létre.

### *3) Tenyésztett halfajok fenotipikus tulajdonságainak mérésére szolgáló gyakorlati irányelvek*

Az AQUAEXCEL projekt szakértői egy intenzív azonosítási módszer használatával a tenyésztett halfajok 62 fenotipikus tulajdonságát határozták meg, amelyek az állatjóléttel, a növekedéssel, a hústermeléssel, táplálkozással és szaporodással kapcsolatosak.

### *4) Az AQUAEXCEL e-infrastruktúra technikai megoldásait, ismertetőit, és tesztelési protokolljait körvonalazó jelentés*

Öt intézetben teszteltük a kifejlesztett e-infrastruktúrát. Az egyes intézetekben a következő technikai megoldásokat biztosítottuk az e-infrastruktúra külső elérhetőségéhez:

- IMARES: Külső hozzáférési lehetőség a recirkulációs halnevelő rendszer vízminőségét monitorozó rendszerhez, illetve SharePoint használata az adatok megosztásához.
- SINTEF/ACE: Külső hozzáférés az Akvakultúra Mérnökség ipari léptékű lazactenyésztési infrastruktúrájához, beleértve az oceanográfiai adatokat és a vízminőségi adatok tárolásának közös modelljét.
- WAGENINGENI EGYETEM: Külső adatok begyűjtése és hozzáférés az Anyagcsere-kutatási Egységhez.
- NOFIMA: A recirkulációs halnevelő rendszerek vízminőségi adatainak megosztása.
- NTNU: Kliens nélküli, biztonságos külső hozzáférés a CodTech automata tengeri hal-keltető laboratóriumhoz.

5) Az AQUAEXCEL közös kutatási tevékenységeiből:

- Az AQUAEXCEL e-infrastruktúra működési követelményei
- Az e-infrastruktúra prototípusának tesztelési terve és tapasztalatai
- Szimulációs modell-modulok listája
- A lazac ginogenezisének optimalizálása
- A ponty és a tengeri süllő androgenezisének optimalizálása

A NAIK-HAKI három területen vállalt feladatokat:

1. Az infrastruktúra rendelkezésre bocsajtása pályázóknak, közös kísérletek keretében
2. Izogén halvonalak előállítása pontynál
3. Koordinációs feladatok a projekt többi tagjával

## PHYLOGENY AND EVOLUTION OF THE POWDERY MILDEW FUNGI (ERYSIPHALES): AN OVERVIEW

SUSUMU TAKAMATSU

*Faculty of Bioresources, Mie University  
1577 Kurima-Machiya, Tsu 514-8507, Japan  
takamatu@bio.mie-u.ac.jp*

### Introduction

Powdery mildew is the general name of the fungi belonging to the Erysiphales, Ascomycota. All of the powdery mildew fungi are obligate biotrophs that infect a wide range of angiosperm plants and appear as white, powdery material on the leaves, stems, or fruits. Braun and Cook (2012) described 16 genera and ca 900 species of the powdery mildews in their monograph. Up to 9838 species in 1617 genera, 169 families and 44 orders of angiosperms have been recorded as the host plants of powdery mildews (Amano 1986), in which a number of economically important plants are involved. This makes the powdery mildews one of the most important plant pathogens. Host range of this fungal group is strictly restricted to angiosperms and they never infect to ferns and gymnosperms. Of the 9838 host plants, 9176 host species belong to the dicots, and only the remaining 662 hosts are monocots, of which 634 (96%) belong to the Poaceae. The powdery mildews can be summarized as the fungi mainly parasitic to dicots of the angiosperms, and peculiarly to the Poaceae in monocots.

### Phylogeny of the Erysiphales and convergent evolution of appendages

Mori *et al.* (2000) carried out phylogenetic analysis of the Erysiphales using the sequence data of the 18S, 28S, and 5.8S rDNA. They reported that the Erysiphales is divided into five distinct lineages, and the respective lineage is well defined by the morphology of conidial stage, but not of ascomata. The respective lineage was recognized as taxonomic unit, tribe, by Braun and Takamatsu (2000). *Uncinula septata* (= *Parauncinula septata*) and *U. forestalis* (= *Caespitotheca forestalis*) were placed in the primitive base to the large clade composed of all other powdery mildew taxa.

Detailed examination within the respective lineage revealed that the fungi with uncinat-circinate appendages are placed at the base of the lineage in three of the five lineages, i.e., *Uncinula* (= *Erysiphe* sect. *Uncinula*) in the tribe Erysipheae, *Pleochaeta* in the tribe Phyllactineae, and *Sawadaea* in the tribe Cystothecae. This result, as well as the basal placement of *U. septata* and *U. forestalis* in the Erysiphales, suggests that the uncinat-circinate appendages are the most primitive morphology of appendage in the Erysiphales. The genera *Uncinula*, *Pleochaeta*, and *Sawadaea* might have old origin, and other taxa included in the respective lineage might be diverged from those genera. Although the fungal taxa with mycelioid appendages, which have long been regarded as a primitive character, are distributed in all of the five lineages, they are placed at the derived positions at least in the above three tribes. Mycelioid appendage may be a derived character as a result of convergent evolution.

Why did the convergence occur? A key to address the question is in the difference of overwintering behavior of the powdery mildews on trees and herbs. Ascoma is considered as an organ to endure during winter season for the powdery mildews. Overwintering behavior by ascomata is well known in the genus *Phyllactinia*. *Phyllactinia* has two types of appendages, bristle-like and penicillate (penicillate cell). The bristle-like appendages bend downward and

lift the ascomata off the leaf surface. These ascomata are easily dislodged and blown off the leaf surface by wind or rain, where upon they adhere to the bark of twigs by the sticky penicillate cells, and function as primary infection sources for the next year. Similarly, mature ascomata of grape powdery mildew, *Uncinula necator* (= *Erysiphe necator*), readily disperse in rain from infected tissues, adhere to the bark of the vine by their appendages, and overwinter there. For powdery mildews of deciduous trees, overwintering on the bark of twigs may be far more advantageous than falling to the ground as primary inoculum for the next year. By contrast, the ascomata of the herb- and evergreen tree-parasitic genera remain on the leaf surface even after maturing. Thus, overwintering behavior of the ascomata is quite different between herb- and evergreen tree-parasitic genera, and deciduous tree-parasitic genera. Appendages have an important role for the ascomatal behavior, which suggests the possibility that the morphology of the appendages is subjected to a selection pressure depending on the type of host. In the powdery mildews parasitic to herbaceous plants, this kind of selection pressure may have disappeared and the morphology of appendages converged to simple, mycelioid shape multiple times independently.

### Evolutionary dating of powdery mildews

Phylogenetic analyses of *Golovinomyces* revealed that all clades situated at the base of the tree were occupied by isolates from asteraceous hosts, and isolates from single tribes of Asteraceae occupied several basal clades (Matsuda and Takamatsu 2003). This result suggests a close affinity of asteraceous hosts with *Golovinomyces* in early evolution. The geographic origin of the Asteraceae was in South America from whence they expanded into the Northern Hemisphere. All the asteraceous hosts used in Matsuda and Takamatsu (2003) belong to tribes that diverged in the Northern Hemisphere. It is possible that the ancestor of *Golovinomyces* first infected asteraceous hosts in South America making this region the origin of the genus. If an ancestor of *Golovinomyces* infected an asteraceous host before the Asteraceae expanded into the Northern Hemisphere, the *Oidium* on *Mutisia* should occupy the very base of the *Golovinomyces* tree. However, the phylogenetic analyses gave us an unexpected result (Takamatsu et al. 2006). The powdery mildew isolates on *Mutisia* were not placed at the base of *Golovinomyces*. This result suggests that an ancestor of *Golovinomyces* occurring in the Northern Hemisphere first infected Asteraceae after the family had migrated to the Northern Hemisphere and before it split off the Cardueae, the first tribe radiated in the Northern Hemisphere (Takamatsu et al. 2006).

We used the molecular clock of the *rbcL* gene, and this suggested that the Cardueae split from other asteraceous tribes 25.2 Ma. We used this date in the *Golovinomyces* trees constructed by sequences from the ITS region including the 5.8S rDNA, and the 5' end of the 28S rDNA including the D1 and D2 regions. When the node of the first split was dated 25.2 Ma, the nucleotide substitution rates were found to be  $2.52 \pm 0.11 \times 10^{-9}$  per site per year ( $0.01D = 3.97$  Ma;  $D$  = genetic distance calculated by the Kimura's two-parameter model) in the ITS region and  $6.5 \pm 0.4 \times 10^{-10}$  per site per year ( $0.01D = 15.4$  Ma) in the D1 and D2 regions of the 28S rDNA (Takamatsu and Matsuda 2004). Using this clock, date of the first radiation of the major tribe was estimated to be ca 70 Ma. Based on complete sequences of the 18S rDNA and the molecular clock (1.26% per 100 Ma) reported by Berbee and Taylor (2001), the first radiation of the major tribe was dated ca 73 Ma, which agrees well with the date calculated by our molecular clock.

Calculations of evolutionary dating using the molecular clocks of 28S rDNA (Takamatsu and Matsuda 2004) and 18S rDNA (Berbee and Taylor 2001) suggested that the split of powdery mildews and Myxotrichaceae occurred in the Middle Cretaceous Period [ca 100 Ma] and first split within powdery mildews occurred in the Late Cretaceous [90-80 Ma]. This dating is clearly



later than the oldest angiosperm fossils [ca 135 Ma], supporting the speculation that powdery mildews infected Angiosperms after they split from the Gymnosperms. Radiation of the five major lineages of the Erysiphaceae occurred in the Cretaceous/Paleogene boundary [70-58 Ma]. Radiation of herb-parasitic powdery mildews began in the Miocene Epoch of the Neogene Period with the first radiation within *Golovinomyces* and *Neoerysiphe* [25-10 Ma] (Takamatsu *et al.* 2008a). This was followed by the formation of the subsection *Magnicellulatae* (formerly *Sphaerotheca fuliginea*) of *Podosphaera* section *Sphaerotheca* in the Middle Miocene [15-10 Ma] (Takamatsu *et al.* 2010), and by the first split within *Leveillula* in the Pliocene [ $\leq 5$  Ma] (Takamatsu *et al.* 2008b).

### Geographic origin of powdery mildews

Because powdery mildews are obligate biotrophs of plants, their niche is strictly confined to the surface of living plants. Geographic distributions of the early hosts of powdery mildews in the Paleogene Period when their first radiation occurred may provide a base to speculate on the location of the cradle of these pathogens. Powdery mildews are divided into five large lineages (tribes) and two basal genera, *Parauncinula* and *Caespitotheca* (Mori *et al.* 2000). Of the five tribes, three, viz. Erysipheae, Phyllactinieae, and Cystothecae, include both tree-parasitic and herb-parasitic taxa, whereas the remaining two tribes, viz. Blumerieae and Golovinomyceteae, include only herb-parasitic taxa with only a few exceptions. In the first-mentioned three tribes, tree-parasitic taxa usually occupy basal positions in the lineages and herb-parasitic species a higher (derived) position. In addition, both the two totally basal genera are tree-parasitic. This evidence suggests that powdery mildews were originally tree-parasitic and subsequently expanded their host ranges to herbaceous plants (Mori *et al.* 2000, Takamatsu *et al.* 2000, Takamatsu 2004). This conforms well to the evolutionary history of Angiosperms. Among the tree-parasitic taxa, those having uncinuloid appendages may be the most ancestral as mentioned above.

Aceraceae, a main host family of *Sawadaea*, may be one of the early host families of powdery mildews. The base of the tribe Phyllactinieae is occupied by *Pleochaeta* with uncinuloid appendages. Therefore, Ulmaceae, a main host family of *Pleochaeta*, may be an additional early host family. Aceraceae and Ulmaceae are also the main host families of *Erysiphe* sect. *Uncinula* (previously the genus *Uncinula*). This section comprises hosts belonging to 39 host plant families (Amano 2002), most of them are members of the families Salicaceae, Betulaceae, Fagaceae, Moraceae, Aceraceae, Vitaceae, and Anacardiaceae. In addition, taxa occurring on *Liquidambar* (Hamamelidaceae) and *Lagerstroemia* (Lythraceae) occupy the very base of *Erysiphe* sect. *Uncinula*. It is noteworthy that all involved plant families and/or genera encompass broad-leaved deciduous trees.

Calibration by molecular clock suggested that powdery mildews originated in the Late Cretaceous Period and the major lineages diverged at the Cretaceous/Paleogene Period boundary [70-57 Ma] (Takamatsu and Matsuda 2004). The temperature of the Earth was warmer than present time from this boundary to Early Eocene [ca 50 Ma], and broad-leaved deciduous trees, the early hosts of powdery mildews, were distributed in the Arctic area at a latitude higher than 70°N. Therefore, it is likely that the early divergence of powdery mildews occurred in this region. A climatic deterioration involving a decrease in world temperature and an increase in seasonality started to occur from the Middle Eocene [ca 50 Ma] and continued until the Glacial Ages in the Pleistocene Epoch of the Quaternary Period [ca 2.6 Ma]. This may have resulted in a southward migration of deciduous trees together with their associated powdery mildews. These climatic as well as geological changes in the Neogene Period may have triggered the further divergence of powdery mildews.

## References

- Amano, K. (1986) Host range and geographical distribution of the powdery mildew fungi. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- Amano, K. (2002) Notes on host range and geographical distribution of *Uncinula* (in Japanese). *Nippon Kingakukai Kaiho* 43: 127–130.
- Berbee, M.L., Taylor, J.W. (2001) Fungal molecular evolution: gene trees and geologic time. In: McLaughlin DJ, McLaughlin EG, Lemke PA (eds) *The Mycota VII. Systematics and evolution, part B*. Springer-Verlag, Berlin, pp 229–245
- Braun, U., Cook, R.T.A. (2012) Taxonomic manual of Erysiphales (powdery mildews), CBS Biodiversity Series No 11. CBS, Utrecht.
- Braun, U., Takamatsu, S. (2000) Phylogeny of *Erysiphe*, *Microsphaera*, *Uncinula* (Erysipheae) and *Cystotheca*, *Podosphaera*, *Sphaerotheca* (Cystothecae) inferred from rDNA ITS sequences - Some taxonomic consequences. *Schlechtendalia* 4: 1–33.
- Matsuda, S., Takamatsu, S. (2003) Evolution of host–parasite relationships of *Golovinomyces* (Ascomycete: Erysiphaceae) inferred from nuclear rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27: 314–327.
- Mori, Y., Sato, Y., Takamatsu, S. (2000) Evolutionary analysis of the powdery mildew fungi using nucleotide sequences of the nuclear ribosomal DNA. *Mycologia* 92: 74–93.
- Takamatsu, S. (2004) Phylogeny and evolution of the powdery mildew fungi (Erysiphales, Ascomycota) inferred from nuclear ribosomal DNA sequences. *Mycoscience* 45: 147–157.
- Takamatsu, S., Havrylenko, M., Wolcan, S.M., Matsuda, S., Niinomi, S. (2008a) Molecular phylogeny and evolution of the genus *Neoerysiphe* (Erysiphaceae, Ascomycota). *Mycological Research* 112: 639–649.
- Takamatsu, S., Hirata, T., Sato, Y. (2000) A parasitic transition from trees to herbs occurred at least twice in tribe Cystothecae (Erysiphaceae): Evidence from nuclear ribosomal DNA. *Mycological Research* 104: 1304–1311.
- Takamatsu, S., Inagaki, M., Niinomi, S., Khodaparast, S.A., Shin, H.D., Grigaliunaite, B., Havrylenko, M. (2008b) Comprehensive molecular phylogenetic analysis and evolution of the genus *Phyllactinia* (Ascomycota: Erysiphales) and its allied genera. *Mycological Research* 112: 299–315.
- Takamatsu, S., Matsuda, S. (2004) Estimation of molecular clocks for ITS and 28S rDNA in Erysiphales. *Mycoscience* 45: 340–344.
- Takamatsu, S., Matsuda, S., Niinomi, S., Havrylenko, M. (2006) Molecular phylogeny supports a northern hemisphere origin of *Golovinomyces* (Ascomycota: Erysiphales). *Mycological Research* 110: 1093–1101.
- Takamatsu, S., Niinomi, S., Harada, M., Havrylenko, M. (2010) Molecular phylogenetic analyses reveal a close evolutionary relationship between *Podosphaera* (Erysiphales: Erysiphaceae) and its rosaceous hosts. *Persoonia* 24: 38–48.

## JÓ VÍRUS – ROSSZ VÍRUS? (GYÓGYÍTÓ VÍRUSOK)

HARRACH BALÁZS, IVA I. PODGORSKI

MTA Agrártudományi Kutatóközpont

Állatorvos-tudományi Intézet

1143 Budapest, Hungária krt. 21.

*harrach.balazs@agrar.mta.hu, ivapodgorski@gmail.com*

### Összefoglaló

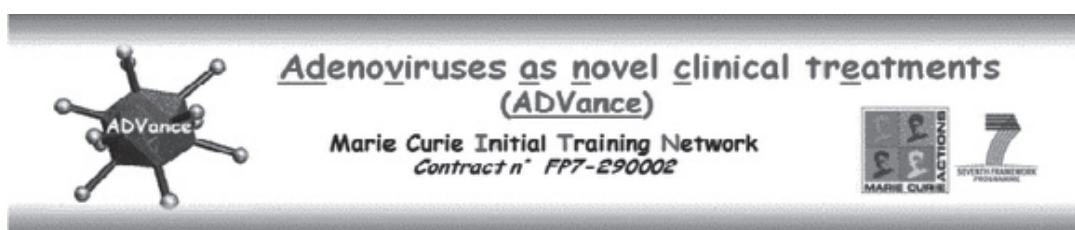
Az adenovírusok komoly betegségeket, sőt egyes állatokban elhullásokat, emberekben bizonyos körülmények között (pl. szervátültetésnél, AIDS-ben szenvedő betegekben) halált is okozhatnak. Egy humán adenovírus ellen ismét bevezette az újoncok általános oltását az amerikai hadsereg. Ugyanakkor a gyengített kórokozóképességű vagy szaporodásképtelenné tett adenovírusok hihetetlenül ígéretes vírusvektorok más, életveszélyes kórokozók elleni immunizálásra, hiányzó gének bejuttatására a beteg szervezetbe vagy közvetlen rákellenes terápiára. A humán gyógyászatban viszont probléma, hogy annyira általános az ártalmatlanabb adenovírusokkal való fertőzöttségünk, hogy az előállított, humán adenovírusokon alapuló vektorokat a gyógyítandó betegekben előforduló ellenanyagok semlegesítik és így hatástalanok. Ezért EU kutatási támogatással és két európai konzorcium társlaboratóriumaival együttműködve állati, elsősorban majom-adenovírusokat keresünk, jellemzünk és próbálunk génsebészeti eljárással génterápiás vektorrá alakítani.

### Bevezetés

Az adenovírusok közepes méretű, ikozaéder alakú, buroknélküli, dupla szálú DNS genommal rendelkező vírusok, melyek szinte minden gerinces gazdában előfordulnak. Az *Adenoviridae* családban már több mint 40 adenovírus fajt fogadtak el hivatalosan, és szinte mindegyik faj több, mint egy (néha pedig számos) típust tartalmaz. Az eddig megismert adenovírusok 5 hivatalosan elfogadott és egy hatodik javasolt nemzetségbe sorolhatók (*Harrach és mtsai. 2011, Doszpoly és mtsai. 2013*). A *Mastadenovirus* nemzetség tagjai mind emlősállatokban szaporodnak, az *Aviadenovirus* nemzetség tagjai madarakban (*Marek és mtsai. 2014*). Az egyetlen ismert hal-adenovírus az *Ichtadenovirus* nemzetség egyedüli tagja, az újonnan javasolt *Testadenovirus* nemzetség tagjai pedig csak teknősökben találhatók. Ugyanakkor az *Atadenovirus* és a *Siadenovirus* nemzetség adenovírusai többféle gerinces osztály tagjaiban is előfordulnak. Az atadenovírusok a pikkelyes hüllők (kígyók és gyíkok) saját, velük együtt fejlődött vírusai (*Pénzes és mtsai. 2014*), de madarakban, kérődzőkben és erszényes rókában is megtalálhatók. A siadenovírusok pedig madarakban, leopárdbékában és Sulawesi teknősben voltak kimutathatók (*Kovács és Benkő 2011*). Az atadenovírusok és a siadenovírusok vegyes gazdaeredetűek csakis a gazdaváltások lehetnek a felelősek: pikkelyes hüllőkről, valamint egy ma még nem azonosított gerinces vonalról (*Harrach 2013*).

A legtöbb adenovírus nem okoz megbetegedéseket az egészséges, erős emberekben és állatokban. De vannak olyanok is, melyek bizonyos állatfajokban, csecsemőkben, károsodott vagy elnyomott immunrendszerű felnőttekben (pl. AIDS-es betegek, vagy szervátültetés előtt, a szervek kilökődésének megakadályozása céljából kezelt betegek esetében) komoly megbetegedéseket (hasmenés, szemgyulladás, máj-károsodás, légzőszervi megbetegedés, agyvelőgyulladás, stb.) sőt halált is okozhatnak (*Benkő 2008*). Állatoknál a gazdasági kár is jelentős lehet, pl. tyúkokban a tojáshozam-csökkenés miatt. Az amerikai hadseregben annyi megbetegedést okoznak a különböző államokból összegyűjtött (és korábban más adenovírusokkal találkozott) újoncok megbetegedései, hogy pár éves kihagyás után ismét kénytelenek voltak bevezetni a 4-es szerotípusú humán adenovírus ellen az összes kiskatona immunizálását.

Az adenovírusok ilyen veszélyessége mellett, ugyanakkor ez a vírus az egyik legígéretesebb és legnépszerűbb jelölt a gyógyászatban való felhasználásra is. Emberben hiányzó gének bejuttatására és pótlására, veszélyes kórokozók elleni immunizálásra, sőt közvetlenül rákellenes kezelésre kívánják használni, mert ilyen sejtölő képessége is van (jól összefoglalva: *Lopez Gordo és mtsai. 2014, Majhen és mtsai. 2014*). E területet segítő, két, EU-támogatású képzési és kutatási konzorcium is dolgozik, és mindkettőben felkért és aktív résztvevő intézetünk. Egyiket a szellemes ADVance kódnevű jelöli (ADV a felhasznált adenovírus szokásos rövidítése, a kialakított betűszó pedig az alkalmazni kívánt fejlett technikákra utal (Adenoviruses as novel clinical treatments) (*1. ábra*). Ez a munka főleg az adenovírus génterápiás kutatások és alkalmazások kivitelezésére alkalmas következő kutató generáció kiképzésére szolgál.



1. ábra. Az ADVance nevű, FP7-es támogatású, kezdő kutatók oktatására alakult hálózat hivatalos logója (<http://www.gla.ac.uk/researchinstitutes/icams/postgraduateresearchopportunities/mariecurieitnadvance/>)

A másik konzorcium kisebb, és inkább a biotechnológiai ipari és az akadémiai szféra összehangolását kívánja segíteni. Ez az AD-VEC (Adenovirus vector technology: next generation system for medical therapy) (*2. ábra*)



2. ábra. Az AD-VEC kódnevű, FP7-es támogatású, akadémiai kutatóhelyek és az ipar közti együttműködést támogató program hivatalos logója (<http://www.vmri.hu/~harrach/ADVEC.htm>)

Az adenovírusok iránti érdeklődés, valamint a különböző molekuláris módszerek megszületése (főleg a polimeráz-láncreakció, PCR feltalálása) nagyszámú, eddig ismeretlen adenovírus megismerését tette lehetővé az elmúlt évtizedekben ([http://www.vmri.hu/\\_harrach/ADENOSEQ.HTM](http://www.vmri.hu/_harrach/ADENOSEQ.HTM)). Viszont újabban egyre égetőbbnek tűnik az igény, hogy ezeket a vírusokat szövettenyészetben izolálni és szaporítani is tudjuk, amelyhez viszont megfelelő sejtvonalakra lenne szükség (szinte minden olyan állatfajból, melynek vírusait szaporítani szeretnénk).



Génterápiás klinikai tesztek már az 1990-es évek előtt elkezdődtek, és mára az adenovírusok a leggyakrabban alkalmazott vírusok (az összes klinikai kipróbálás 22,8%-ban) (<http://www.wiley.com/legacy/wileychi/genmed/clinical/>). Ennek oka a vírus biológiai jellegzetességeiben kereshető. Az adenovírusok valóban talán a leghasználhatóbb génterápiás eszközök, mivel számos különböző állatfajból van izolátumunk, genomja nem épül be a gazda genomjába (mint pl. a retrovírusok esetében, melyeket szintén használnak génterápiás kísérletekben, de a beépülés sejthalálhoz vagy éppen fordítva, kontrollálhatatlan sejtszaporodáshoz, azaz daganatos elváltozáshoz vezethet). Az adenovírusok megváltoztathatók úgy, hogy specifikusan a rákos sejtekben szaporodjanak és elpusztítsák azokat, ugyanakkor az egészséges sejteket ne károsítsák. Hatékonyan képesek bejutni mind az osztódó, mind pedig a nem-osztódó sejtekbe. Génszabványi technikákkal könnyen alakíthatók, majd nagy mennyiségben termelhetők. Mérete miatt aránylag hosszú idegen génszakaszok is beleépíthetők. Az elmúlt 30 év minden fejlődése ellenére is máig összesen csak 2 jóváhagyott vírusos génterápiás eljárás létezik, mindkettő adenovírus alapú. A Gendicine-t 2003-ban hagyták jóvá, és feji és nyaki karcinóma kezelésére használják. Az Oncorine-t 2005-ben engedélyezték, és a késői stádiumú, orr- és garatüregi rák kezelésére használatos. Mindkettő csak Kínában elérhető. Ilyen gyógyszer ma még nincs engedélyezve sem Európában, sem Amerikában. A European Medicines Agency 2012-ben ajánlott először európai elfogadásra génterápiás terméket (ez adeno-asszociált vírus, azaz egy dependoparvovírus vektoron alapul). Ezt azután az Európai Bizottság el is fogadta. Ezzel egy teljes kezelés költsége 1,6 millió USD-re becsülhető, ami a világ legdrágább gyógyszerét fogja jelenteni.

### Szervezeti keretek, célok, eljárások

ADVance (FP7-290002, 2012-2016) konzorcium a Marie Curie International Training Network (ITN) része, és 8 akadémiai/egyetemi központot fog össze (az Egyesült Királyságban, Svájcban, Svédországban, Spanyolországban, Finnországban, Franciaországban és hazánkban), valamint 4 vállalatot (Hollandiában, az Egyesült Királyságban és Svédországban). Fő célja fiatal kutatókat képezni adenovírus kutatásra. Mindegyik intézmény és vállalat aktív szereplője az adenovírus kutatásoknak, vagy a vírusok megismerésének alapkutatási szintjén, vagy pedig kísérleti vektorként való alkalmazásuk során, a klinikai rákgyógyítás, szív- és érrendszeri megbetegedések kezelésére vagy immunizálásra. A résztvevők többsége a humán adenovírusokat tanulmányozza, a franciák a kutya-adenovírus alapú vektort, a svájciak az egér-adenovírusokra koncentrálnak, míg a mi laboratóriumunk egyszerre számos további állati adenovírussal, leginkább majom-adenovírusokkal dolgozik. A humán gyógyászatnak ugyanis azzal kellett szembesülni, hogy annyira általános az ártalmatlanabb adenovírusokkal való fertőzőttségünk, hogy a humán adenovírus alapú vírusvektorokat a szinte minden emberben előforduló ellenanyagok semlegesítik és így általában hatástalanok. Ezért keresünk új állati adenovírusokat, melyek hatékony alternatívák lennének.

AD-VEC (FP7-324325, 2013-2017) a Marie Curie Industry-Academia Partnerships and Pathways (IAPP) együttműködések része. Ebben már csak 5 partner van az előzőkből, 2 ipari, biotechnológiai cég (Hollandiában) és 3 akadémiai partner (Svédország, UK és hazánk). Célunk új adenovírusok vektorok azonosítása újszerű orvosi felhasználásokra, szív- és érrendszeri megbetegedések és fertőző betegségek kezelésére. Az AD-VEC célja új és ritka humán és állati adenovírusok azonosítása, génszabványi módosításuk, magas minőségű rekombináns adenovírus vektorrá alakításuk, első lépésben jelzőgének kifejezésére. Továbbá ezeknek az új vírus vektoroknak a részletes jellemzése fertőzőképesség, sejtreceptor használat, sejtropizmus (sejt preferencia) szempontjából, valamint, hogy milyen a kapcsolatuk a vér- és immunrendszerrel. Összefoglalva, új vektorok fejlesztését tervezzük betöltetlen klinikai igényekre a klinikai kipróbálásokat megelőző szintig, és ehhez mind *in vitro*, mind pedig *in vivo* megközelítéseket alkalmazunk.

Mivel a főemlős majmok állnak legközelebb az emberekhez, és ezt a két csoportot fertőző adenovírusok nagyon hasonlóak, egyre fokozottabb az érdeklődés a majom-adenovírusok (simian adenovírus, SAdV) lehetséges gyógyító célú felhasználása iránt. Jelenleg már számos csimpánz-alapú vektor létezik, és sok gorilla-adenovírus genom is ismert és valószínűleg fejlesztés alatt áll. Több újabb



tanulmány viszont felvetette a lehetőségét, hogy a majom-adenovírusok esetleg aktívan fertőzhetik az embereket (*Chen és mtsai. 2011*). Ez viszont megkérdőjelezheti az ilyen vektorok biztonságát (*Benkő és mtsai. 2014*). Az ideális vektor evolúciós szempontból és biológiai tulajdonságaiban legyen elég közel a humán adenovírusokhoz, hogy ugyanolyan eljárással lehessen manipulálni, mint azokat. De legyen mégis annyira különböző, hogy a különbség eleve kizárjon minden lehetőséget, hogy a vírus átlépje a fajhatárt és embert fertőzzön. Mivel a gorilla- és csimpánz-adenovírusok túl közeli rokonai lehetnek a humán adenovírusoknak, ezért ősbíró főemlős-fajok adenovírusait keressük, az emberszabású majmok közül az orangutánban és gibbonban, a nem-emberszabású főemlősök közül az óvilági majmokban, a még ősbíró újvilági majmokban, sőt az elsőként kialakult félmajmokban is. Bár számos majom-adenovírust izoláltak korábban óvilági majmokból (SAdV-1–20, 48–50, pávián-AdV-1, 2/4, 3, számos rhesusmajom-AdV), de legtöbbjük szekvenálása nem történt meg (*1. táblázat*). Újvilági majmokból csak a rezes kabócamajom adenovírust szekvenálták (*Chen és mtsai 2011*). Ilyen vírusokról vannak még további bejelentések is, de alig tartalmaznak részleteket. Félmajmokból viszont még egyetlen adenovírust sem közöltek.

**1. táblázat.** Főemlősök eddig jellemzett adenovírusai (AdV)

Gazdák		Szekvenált teljes genomok típus (hivatalos faj)	Részlegesen szekvenált
félmajmok (~130 faj)		nincs	nincs
újvilági majmok (~140 faj)		rezes kabócamajom-AdV	törpe selyemmajom-AdV, gyapjasfejű tamarin-AdV
óvilági majmok (~140 species)		SAdV-1, 7 (HAdV-G); SAdV-3, 6, 48 (SAdV-A), SAdV-18, 20, 49, 50, 3 Anubisz-pávián-AdV, 9 rhesusmajom-AdV	SAdV-2, 4, 5, 8-17, 19; 6 kolobusz-AdV, galléros pávián-AdV, közösleges makákó-AdV, rhesusmajom-AdV
emberszabású majmok (~25 faj)	gibbon	nincs	nincs
	orangután	nincs	nincs
	csimpánz, bonobó, gorilla	~40 AdVs (HAdV-B, C, E)	~15 AdVs

PCR segítségével, konszenzus primerekkel, állatkerti mintákból és korábbi izolátumokból erősítettünk fel majom-adenovírus genomrészleteket szekvenálásra. Majomadenovírus-izolátumok szaporodási képességét vizsgáltuk különböző sejtvonalakon. Elszaporított vírusok kivont DNS-ét új generációs szekvenálással vizsgáltuk, genomszerveződésüket megállapítottuk. Bakteriális kifejező rendszerben adenovírus fibereket fejezünk ki sejtreceptor vizsgálatokhoz (*Arnberg 2012*) és háromdimenziós szerkezetük röntgenkristallográfiás megállapításához.

### Eredmények és következtetések

Sikerült új adenovírusokat találni több majom-fajból is az *1. táblázat* 1. oszlopában feltüntetett mind a 6 főemlős csoportból (a félmajmoktól az emberszabásúakig). Több korábban izolált majom-adenovírus szerotípus teljes genomját szekvenáltuk, másokét legalább részben. Így megerősíthettük korábbi taxonómiai véleményünket és felállíthattunk egy új taxonómiai beosztást is ezekre a vírusokra a talált filogenetikai távolságok és biológiai jellegzetességeik alapján (SAdV-1-től 20-ig; *Kovács és mtsai. 2005*). Fiber-géneket fejezünk ki bakteriális rendszerben, a fehérjét sikerült kristályosítani (*Singh és mtsai. 2013*), majd együttműködőinknek a fiberfejecské 3D szerkezetét is megállapítani.

A kapott molekuláris eredmények lehetővé teszik az *Adenoviridae* család taxonómiájának tökéletesítését, ami sokat segít a vírustípusok közti általános hasonlóságok és különbségek

felismerésében, majd ennek alapján a megfelelő vektor jelöltek kiválasztásában, melyeket azután érdemes részletesen tanulmányozni. A vírusok összehasonlító genomelemzése hasznos adatokat ad az adenovírusok sokszínűségéről, evolúciójáról, bizonyos gének lehetséges funkciójáról, valamint az orvostudományban való esetleg használhatóságáról. A következő nehézség a talált vírusok szövettenyésztésen való sikeres izolálása és szaporítása lesz, ami viszont nélkülözhetetlen az ipari méretű vektor-termeléshez.

Közben 2014 szeptemberének elején elkezdődött az első csimpánz-adenovírus vektoron alapuló Ebola-vírus elleni emberi immunizálási kísérlet. Először a vakcina biztonságosságát, majd a hatékonyságát vizsgálják, azaz hogy képes-e megvédeni az embert az Ebola-vírus fertőzöttségtől (ugyanis a kísérleti majmokat már bizonyítottan megvédi). Mindez alátámasztja a mi kutatásaink időszerűségét és fontosságát is.

### Köszönetnyilvánítás

A kutatásokat az EU FP-7 két Marie Curie támogatása biztosítja, az ADVance (FP7-290002, Initial Training Network; ez biztosította IIP ösztöndíját is), és az AD-VEC (FP7-324325, Industry-Academia Partnerships and Pathways, IAPP), mely nagyvonalú segítségért hálás köszönetet mondunk. Számos állatkerti állatorvos, gondozó és kutató gyűjtött számunkra mintákat, a két konzorcium külföldi vezetői és kutatói pedig nélkülözhetetlen szakmai tanácsokkal segítették munkánkat.

### Irodalom

- Arnberg N (2012) Adenovirus receptors: implications for targeting of viral vectors. *Trends in Pharmacological Sciences* 33: 442-448.
- Benkő M (2008) Adenoviridae. Pathogenesis. In: Mahy B, van Regenmortel M (eds) *Encyclopedia of Virology*, Third ed., vol. 1. Elsevier, Oxford pp. 24-29.
- Benkő M, Harrach B, Kremer EJ (2014) Do nonhuman primate or bat adenoviruses pose a risk for human health? *Future Microbiology* 9: 269-272.
- Chen EC, Yagi S, Kelly KR, Mendoza SP, Tarara RP, Canfield DR, Maninger N, Rosenthal A, Spinner A, Bales KL, Schnurr DP, Lerche NW, Chiu CY (2011) Cross-species transmission of a novel adenovirus associated with a fulminant pneumonia outbreak in a new world monkey colony. *PLoS Pathogens* 7: e1002155.
- Doszpoly A, Wellehan J, Childress A, Tarján Z, Kovács E, Harrach B, Benkő M (2013) Partial characterization of a new adenovirus lineage discovered in testudinoid turtles. *Infection, Genetics and Evolution* 17: 106-112.
- Harrach B (2013) Kígyó-adenovírus a csirkepaprikásban? Amiről a vírusgenomok árulkodnak. *Magyar Tudomány* 174: 980-988.
- Harrach B, Benkő M, Both GW, Brown M, Davison AJ, Echavarría M, Hess M, Jones MS, Kajon A, Lehmkuhl HD, Mautner V, Mittal SK, Wadell G (2011) Family Adenoviridae. King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ (eds) *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier, San Diego pp. 125-141.
- Kovács ER, Benkő M (2011) Complete sequence of raptor adenovirus 1 confirms the characteristic genome organization of siadenoviruses. *Infection, Genetics and Evolution* 11: 1058-1065.
- Kovács GM, Davison AJ, Zakhartchouk AN, Harrach B (2004) Analysis of the first complete genome sequence of an Old World monkey adenovirus reveals a lineage distinct from the six human adenovirus species. *Journal of General Virology* 85: 2799-2807.
- Lopez-Gordo E, Podgorski II, Downes N, Alemany R (2014) Circumventing antivector immunity: potential use of nonhuman adenoviral vectors. *Human Gene Therapy* 25: 285-300.
- Majhen D, Calderon H, Chandra N, Fajardo CA, Rajan A, Alemany R, Custers J (2014) Adenovirus-based vaccines for fighting infectious diseases and cancer: progress in the field. *Human Gene Therapy* 25: 301-317.
- Marek A, Kaján GL, Kosiol C, Harrach B, Schlötterer C, Hess M (2014) Complete genome sequences of pigeon adenovirus 1 and duck adenovirus 2 extend the number of species within the genus *Aviadenovirus*. *Virology* 462-463:107-114.

- Pénzes J, Menéndez-Conejero R, Condezo G, Ball I, Papp T, Doszpoly A, Paradelo A, Pérez-Berná A, López-Sanz M, Nguyen T, van Raaij M, Marschang R, Harrach B, Benkő M, San Martín C (2014) Molecular characterization of a lizard adenovirus reveals the first atadenovirus with two fiber genes, and the first adenovirus with either one short or three long fibers per penton. *Journal of Virology* 88: 11304-11314.
- Singh AK, Ballmann MZ, Benkő M, Harrach B, van Raaij MJ (2013) Crystallization of the C-terminal head domain of the fibre protein from a siadenovirus, turkey adenovirus 3. *Acta Crystallographica Section F Structural Biology and Crystallization Communications* 69: 1135-1139.

## FENOTÍPUSOS PLASZTICITÁS EGY GERINCES FAJ KÉMIAI VÉDEKEZÉSÉBEN

HETTYEY ATTILA

MTA Agrártudományi Kutatóközpont  
Növényvédelmi Intézet  
Lendület Evolúciós Ökológiai Kutatócsoport  
Herman Ottó út 15, 1022 Budapest  
hettyey.attila@agrar.mta.hu

### Összefoglaló

A fenotípusos plaszticitás az evolúcióbiológia egyik központi fogalma. Ennek megfelelően az elmúlt évtizedekben rengeteg bizonyíték gyűlt össze arra, hogy az élőlények széles köre módosítja a rátermettség szempontjából fontos tulajdonságait válaszul a környezet megváltozására. A növények esetében pontosan és részleteibe menően ismert, hogy kémiai védekezésüket plasztikusan hozzáalakítják a környezethez. Állatok esetében az ilyen jellegű plaszticitásról meglepően hézagok az ismereteink. Egy FP7 Marie Curie Career Integration Grant, az osztrák BMWF Sparkling Science projektje, valamint az MTA Lendület programja segítségével ebben a témakörben végzünk kutatásokat. Azt vizsgáljuk, hogy a barna varangy (*Bufo bufo*) ebihalak bőrmirigyeinek méregtermelése módosul-e ragadozók, versenytársak, vagy kórokozók megjelenésekor. Teszteljük továbbá, hogy a méregtermelésben bekövetkező, környezet által indukált változások megnövekedett túlélési esélyt eredményeznek-e, vagyis adaptívnak mondhatók-e. Tanulmányozzuk, hogy az indukált védekezés kifejeződésének vannak-e rövid, vagy hosszú távon kimutatható költségei. Végül felderítjük a méregtermelés és a benne tapasztalt plaszticitás kvantitatív genetikai hátterét. Kültéri és laboratóriumi kísérleteket egyaránt végzünk, amiket természetes populációkban történő felmérésekkel egészítünk ki. Munkánkat a tágabb szakterület nemzetközi viszonylatban vezető kutatóival, valamint anyaintézetünk több szakemberével együttműködésben végezzük. Eredményeinknek az evolúcióbiológia, a kémiai ökológia, a viselkedésökológia és a konzervációbiológia területén van jelentősége, de mivel kutatásaink középpontjában biogén és bioaktív anyagok állnak, ezek vizsgálata új impulzusokat adhat a növényvédelem, vagy a gyógyászat számára is. Projektünk így mind az alapkutatás, mind az alkalmazott kutatás bizonyos irányaira termékenyítőleg hathat, ugyanakkor vizsgálataink kiterjesztésének hosszabb távon gazdasági haszna is lehet.

### Bevezetés

A fenotípusos plaszticitás, vagyis a genotípusok azon képessége, hogy megjósolhatatlanul változó környezetben különböző fenotípusokat hozzanak létre (*West-Eberhard 1989, Futuyma 1998*), az evolúcióbiológia egyik kulcsfontosságú fogalma. Évtizedek óta a kutatások fókuszában van az ökológiai folyamatok és mintázatok kialakításában és fenntartásában, a fajképződésben, valamint az élővilágban tapasztalt viselkedésbeli és morfológiai sokszínűség létrejöttében betöltött központi szerepe miatt (*Miner és mtsai. 2005, Pfennig és mtsai. 2010*). Az egyedek morfológiájukat, viselkedésüket, fejlődési és növekedési sebességüket, és számtalan további tulajdonságukat képesek megváltoztatni külső tényezők hatására, úgymint ragadozók, versenytársak, vagy kórokozók megjelenésére (*Tollrian és Harvell 1999*).

Fenotípusos plaszticitás a kémiai védekezésben is megjelenhet. A növények kémiai védekezésében tapasztalt plaszticitást évtizedek óta kutatják, arról pontos és kiterjedt ismereteink vannak. Állatok kémiai védekezésének plaszticitásával azonban meglepően keveset foglalkoztak, annak ellenére, hogy az állatoknál is széles körben elterjedt a kémiai védekezés, és ismert, hogy a méregtermelés különbözhet mind populációk, mind egyes egyedek különböző életszakaszai között (*Kubane és mtsai. 2002, Fordyce és mtsai. 2006, Hayes és mtsai. 2009*). Csupán két,

gerinctelenekkel foglalkozó tanulmányról tudunk, amik kimutattak ragadozó-ellenes kémiai védekezésben adaptív plaszticitást (Slattery és mtsai. 2001, Thornton és Kerr 2002). Gerincesek esetében két cikk írt le fenotípusos plaszticitást a méregtermelésben (Benard és Fordyce 2003, Hagman és mtsai. 2009). Ezek kételtűek ragadozó-ellenes védekezését vizsgálták, de a plasztikus válasz egyik esetben sem volt adaptívnek tekinthető. Olyan vizsgálatokra van tehát szükség, amik dokumentálják a kémiai védekezés környezeti hatásokra történő megváltozását és igazolják, hogy ezen változások adaptívak, vagyis megnövelik az egyedek relatív rátermettségét, a válaszadás megjelenő költségei ellenére is (Hettyey és mtsai. 2014).

A mérgek nem csak ragadozók ellen lehetnek hatékonyak, de termelődhetnek versenytársak ellenében is. Utóbbi jelenséget, amit allelopátiának nevezünk, részletesen vizsgálták algák és magasabbrendű növények esetében (Whittaker és Feeny 1971, Reigosa és mtsai. 2006). Néhány alacsonyabb rendű állatfajról, de gerincesekről is ismert, hogy tartalmazznak, vagy leadnak olyan anyagokat, amik hátrányosan hatnak versenytársaik növekedésére és túlélésére (Jackson és Buss 1975, Petranks 1995, Kubanek és mtsai. 2002, Crossland és Shine 2011). Azt azonban, hogy az allelopátiás hatású anyagok termelése állatok esetében plasztikusan alkalmazkodik-e a versenytársak jelenlétéhez és abundanciájához, tudunkkal eddig senki nem vizsgálta (Hettyey és mtsai. 2014).

A kórokozók által indukált védekezés, az orvostudomány szempontjából betöltött fontossága miatt, a fenotípusos plaszticitás legrészletesebben kutatott területe. Az immunrendszer kórokozók megjelenésére indukálódik és plasztikusan válaszol (Frost 1999). Néhány taxonban, mint például sok kételtűfaj egyedeiben, a bőrben elhelyezkedő, külső elválasztású mirigyek váladéka is közreműködik az immunrendszer működésében (Zaslloff 2002). Ennek ellenére csak két vizsgálat foglalkozott azzal a kérdéssel, hogy ezen mirigyek méregtermelése függ-e az állatok környezetében jelenlévő kórokozók mennyiségétől, illetve minőségétől (Miele és mtsai. 1998, Mangoni és mtsai. 2001).

Ahhoz, hogy egy plasztikus tulajdonság reagálhasson a szelekcióra és evolválódjon, örökölhető genetikai változatosságnak kell lennie a háttérben (Via és Lande 1985). Ha a szelekció elég erős evolúciós időléptékben, az a reakciónormát meghatározó genetikai változatosság lecsökkenéséhez vezethet és így elejét veheti a további adaptálódásnak, ugyanakkor a morfológiai, élettani és viselkedési tulajdonságok közötti genetikai korrelációk is bonyolíthatják a képet (Lande 1982). A fenotípusos plaszticitás örökölhetőségéről, különösen gerincesek esetében, erősen hiányosak az ismereteink. Alaposan megtervezett kvantitatív genetikai vizsgálatokra van szükség ahhoz, hogy felderítsük a plaszticitás mértékének és az egyes plasztikus tulajdonságoknak a genetikai meghatározottságát és -architektúráját (Stearns és mtsai. 1991).

#### Célkitűzések

Vizsgálatainkban elsősorban a következő fő hipotéziseket teszteljük:

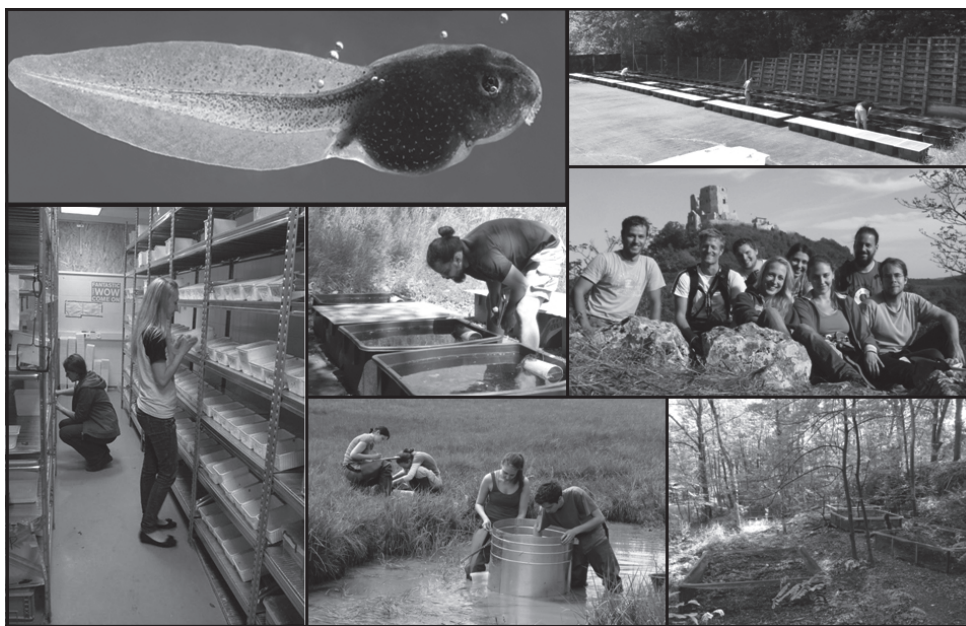
1. A barna varangy (*Bufo bufo*) ebihalak bőrmirigyeinek méregtermelésében plasztikus válasz figyelhető meg ragadozók, versenytársak, vagy kórokozók megjelenésekor.
2. A méregtermelésben tapasztalt környezet-indukált változások megnövekedett túlélési esélyt eredményeznek, így ezek a plasztikus válaszok adaptívnek mondhatók.
3. Az indukált védekezés kifejeződésének rövid, vagy hosszú távon kimutatható költségei vannak.
4. A bőr méregtermelésében mért plasztikus válasznak örökölhető genetikai háttere van, így a méregtermelés plaszticitására hathatnak az evolúciós folyamatok.



## Anyagok és módszerek

Vizsgálatainkban a barna varangy (*Bufo bufo*) kémiai védekezésének plaszticitását kutatjuk. Ezen faj ebihalairól ismert, hogy plasztikusan válaszolnak viselkedésük, morfológiájuk, fejlődési sebességük és növekedési rátájuk módosításával ragadozók megjelenésére, de ezen válaszok más fajokéhoz hasonlítva viszonylag gyengék (Laurila és mtsai. 1998; Lardner 2000; saját, közlésre váró adatok). Ezek helyett a barna varangy ebihalak, úgy tűnik, méreganyagaikra hagyatkoznak, hisz már pete és embrió korban, de az ebihalak is tartalmaznak szív mérgeket (bufadienolidokat) és biogén aminokat (Toledo és Jared 1995, Mebs és mtsai. 2007), aminek következtében több ragadozófaj kerül az elfogyasztásukat (Kruse és Stone 1984, Peterson és Blaustein 1992). A barna varangyok méregmirigyeiben termelt váladék antimikrobiális hatásáról és versengésben betöltött szerepéről jóformán semmit nem tudunk. A felnőtt barna varangyok sokféle víztestet használnak szaporodóhelyként, így az ebihalak ragadozók, versenytársak és kórokozók megjósolhatatlan összetételű együtteseinek jelenlétében fejlődnek, ami ideális körülményeket jelent a fenotípusos plaszticitás evolúciós megjelenése számára (West-Eberhard 1989, Futuyma 1998). A barna varangy ebihalak mindezeket figyelembe véve tökéletes modelljei lehetnek a kémiai védekezés plaszticitásának vizsgálatát célzó kutatásoknak.

Standard laboratóriumi, valamint szabadföldi mezokozmosz kísérletek kombinációit végezzük, amiket terepi adatgyűjtéssel egészítünk ki (1. ábra). A bőrmirigyek által termelt váladékok összetételét HPLC-MS segítségével, Móricz Ágnes (MTA ATK NÖVI, Kórélettani Osztály) közreműködésével elemezzük.



1. ábra. Képek a vizsgálati módszereinkről. Bal oldalt fent: vizsgálataink modellfaja, a barna varangy lárvája; jobb oldalt fent: egy szabadföldi mezokozmosz-kísérlet ebihalakkal; bal oldalt alul: laboratóriumi munka ebihalakkal; középen: viselkedésmegfigyelés egy szabadföldi kísérletben; jobb oldalt középen: a csoport tagjai (-nak egy része); középen alul: terepi adatgyűjtés természetes élőhelyeken; jobb oldalt alul: szabadban elhelyezett ketrecek az átalakult állatok felneveléséhez.

## Eredmények és következtetések

A fél éve elnyert FP7 Marie Curie Career Integration Grant által támogatott első vizsgálataink folyamatban vannak. Eredményeink nagy úrt fognak betölteni azzal kapcsolatban, hogy az állatok hogyan reagálnak környezetük megváltozására, és mind az evolúcióból, mind a kémiai ökológia, a viselkedésökológia, vagy a konzervációbiológia számára fontosak lesznek,

és egy új kutatási irányt fognak elindítani. Mivel élőlények által termelt, vagyis biogén, és élőlényekre élettani hatást kifejtő, vagyis bioaktív anyagok állnak kutatásaink középpontjában, vizsgálataink eredményei új impulzusokat adhatnak a növényvédelem és a gyógyászat számára is. Projektünk így nemcsak az alap kutatás szempontjából fontos, de az alkalmazott kutatás bizonyos irányaira is termékenyítőleg hathat. Vizsgálatainkat középtávon mi magunk is ki fogjuk terjeszteni oly módon, hogy azoknak gazdasági haszna is lehessen.

Az EU-tól kapott támogatás a leírt kutatási projekt kivitelezésének segítése mellett ahhoz is hozzájárul, hogy az MTA ATK NÖVI-ben működő Lendület Evolúciós Ökológiai Kutatócsoport vezetője és további kutatói megszilárdítsák a hazai és nemzetközi kutatásban elért pozíciójukat, nagy lépéseket tegyenek az akadémiai doktori cím megszerzése felé, bevonzzák hazai és nemzetközi kapcsolataikat az intézetbe (pl.: Josh Van Buskirk, University of Zurich, Svájc; Anssi Laurila, Uppsala University, Svédország; Herbert Hoi és Dustin J. Penn, Konrad Lorenz Institute of Ethology, University of Veterinary Medicine Vienna, Ausztria; Matteo Griggio, University of Padova, Olaszország; Trenton W. J. Garner, Zoological Society of London, Nagy-Britannia; Robert J. Capon, University of Queensland, Brisbane, Ausztrália), valamint új kísérleti módszerekkel és széleskörű statisztikai ismereteikkel gazdagítsák az intézetet. Csoportunk tagjainak írott publikációi és konferencia-részvételei nagymértékben növelik anyaintézetünk tudományos ismertségét és elismertségét, az elnyert pályázatok pedig anyagi stabilitásához járulnak hozzá.

### Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom közvetlen munkatársaimnak, Tóth Zoltánnak, Bókony Veronikának és Szederkényi Márknak, valamint hallgatóinknak, Fera Gábornak, Gál Zoltánnak, Kurali Anikónak, Mikó Zsanettnak, Pásztor Katalinnak, Szép Ernának, Ujszegi Jánosnak, Üveges Bálintnak és Vági Baláznak. Kiss Leventének, a NÖVI igazgatójának, valamint Bedő Zoltánnak, az ATK főigazgatójának hálásak vagyunk a csoport beilleszkedésében nyújtott segítségével, Móricz Ágnesnek a kémiai elemzések területén rendelkezésünkre bocsájtott szaktudásáért, a Közép-Duna-Völgyi KTVF-nek az állatok begyűjtésére vonatkozó engedélyekért. Vizsgálataink anyagi háttérét egy FP7 Marie Curie Career Integration Grant (PCIG13-GA-2013-631722), az osztrák Bundesministerium für Wissenschaft und Forschung Sparkling Science projektje (SPA 04/171), valamint a Magyar Tudományos Akadémia Lendület Programja (MTA, LP2012-24/2012) biztosítja.

### Hivatkozások

- Benard MF, Fordyce JA (2003) Are induced defenses costly? Consequences of predator-induced defenses in western toads, *Bufo boreas*. *Ecology*, 84: 68-78.
- Crossland MR, Shine R (2012) Embryonic exposure to conspecific chemicals suppresses cane toad growth and survival. *Biol Lett*, 8: 226-229.
- Fordyce JA, Nice CC, Shapiro AM (2006) A novel trade-off of insect diapause affecting a sequestered chemical defense. *Oecologia*, 149: 101-106.
- Frost SDW (1999) The immune system as an inducible defense. In: *The ecology and evolution of inducible defenses* (Tollrian R, Harvell CD, eds.), pp. 104-126. Princeton University Press, Princeton, NJ, USA.
- Futuyma DJ (1998) *Evolutionary biology*. 3rd edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.
- Hagman M, Hayes R, Capon RJ, Shine R (2009) Alarm cues experienced by cane toad tadpoles affect post-metamorphic morphology and chemical defences. *Funct Ecol*, 23: 126-132.
- Hayes RA, Crossland MR, Hagman M, Capon RJ, Shine R (2009) Ontogenetic variation in the chemical defences of cane toads (*Bufo marinus*): toxin profiles and effects on predators. *J Chem Ecol*, 35: 391-399.
- Hettyey A, Tóth Z, Van Buskirk J (2014) Inducible chemical defences in animals. *Oikos*, 123: 1025-1028.

- Jackson JBC, Buss L (1975) Allelopathy and spatial competition among coral-reef invertebrates. *Proc Natl Acad Sci USA*, 72: 5160-5163.
- Kruse KC, Stone BM (1984) Largemouth bass (*Micropterus salmoides*) learn to avoid feeding on toad (*Bufo*) tadpoles. *Anim Behav*, 32: 1035-1039.
- Kubaneck J, Whalen KE, Engel S, Kelly SR, Henkel TP, Fenical W, Pawlik JR (2002) Multiple defensive roles for triterpene glycosides from two Caribbean sponges. *Oecologia*, 131: 125-136.
- Lardner B (2000) Morphological and life history responses to predators in larvae of seven anurans. *Oikos*, 88: 169-180.
- Laurila A, Kujasalo J, Ranta E (1998) Predator-induced changes in life history in two anuran tadpoles: effects of predator diet. *Oikos*, 83: 307-317.
- Lande R (1982) A quantitative genetic theory of life history evolution. *Ecology* 63: 607-615.
- Mangoni ML, Miele R, Renda TG, Barra D, Simmaco M (2001) The synthesis of antimicrobial peptides in the skin of *Rana esculenta* is stimulated by microorganisms. *FASEB J*, 15: 1431-1432.
- Mebs D, Wagner MG, Pogoda W, Maneyro R, Kwet A, Kauert G (2007) Lack of bufadienolides in the skin secretion of red bellied toads, *Melanophryniscus* spp. (Anura, Bufonidae), from Uruguay. *Comp Biochem Phys C*, 144: 398-402.
- Miele R, Ponti D, Boman HG, Barra D, Simmaco M (1998) Molecular cloning of a bombinin gene from *Bombina orientalis*: detection of NF-UB and NF-IL6 binding sites in its promoter. *FEBS Lett*, 431: 23-28.
- Miner BG, Sultan SE, Morgan SG, Padilla DK, Relyea RA (2005) Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends Ecol Evol*, 20: 685-692.
- Peterson JA, Blaustein AR (1992) Relative palatabilities of anuran larvae to natural aquatic insect predators. *Copeia*, 1992: 577-584.
- Petranka JW (1995) Interference competition in tadpoles: Are multiple agents involved? *Herpetol J*, 5: 206-207.
- Pfennig DW, Wund MA, Snell-Rood EC, Cruickshank T, Schlichting CD, Moczek AP (2010) Phenotypic plasticity's impacts on diversification and speciation. *Trends Ecol Evol*, 25: 459-467.
- Reigosa MJ, Pedrol N, González L (2006) Allelopathy: a physiological process with ecological implications. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Slattery M, Starmer J, Paul VJ (2001) Temporal and spatial variation in defensive metabolites of the tropical Pacific soft corals *Sinularia maxima* and *S. polydactyla*. *Mar Biol*, 138: 1183-1193.
- Stearns S, de Jong G, Newman B (1991) The effects of phenotypic plasticity on genetic correlations. *Trends Ecol Evol*, 6: 122-126.
- Thornton RS, Kerr RG (2002) Induction of pseudopterosin biosynthesis in the gorgonian *Pseudopterogorgia elisabethae*. *J Chem Ecol*, 28: 2083-2090.
- Toledo RC, Jared C (1995) Cutaneous poison glands and amphibian venoms. *Comp Biochem Phys A*, 111: 1-29.
- Tollrian R, Harvell CD (1999) The ecology and evolution of inducible defences. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Via S, Lande R (1985) Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution*, 39: 505-522.
- West-Eberhard MJ (1989) Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annu Rev Ecol Syst*, 20: 249-278.
- Whittaker RH, Feeny PP (1971) Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science*, 171: 757-770.
- Zasloff M (2002) Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 415: 389-395.

## NEMESÍTÉSI ÉS SZÁNTÓFÖLDI MENEDZSMENTSTRATÉGIÁK ORGANIKUS ÉS 'LOW-INPUT' KÖRÜLMÉNYEKRE

RAKSZEGI MARIANN, MIKÓ PÉTER, MEGYERI MÁRIA, BEDE KAROLINA,  
LÁNG LÁSZLÓ, KOVÁCS GÉZA, LÁNGNÉ MOLNÁR MÁRTA

MTA Agrártudományi Kutatóközpont  
Mezőgazdasági Intézet  
2462 Martonvásár, Brunszvik u. 2.  
rakszegi.mariann@agrar.mta.hu

### Bevezetés

A SOLIBAM EU-FP7 pályázat célja, olyan specifikus, új nemesítési stratégiák kidolgozása volt, különböző szántóföldi menedzsmentek alkalmazása mellett, amelyekkel javítható az organikus és 'low-input' körülményekhez adaptálódó gabonák termőképessége, minősége, fenntarthatósága és stabilitása, valamint növelhető ezen növények diverzitása elsősorban Európában, figyelembe véve néhány kis farm eredményeit is. A téma egyik fő hipotézise, hogy az organikus és 'low-input' rendszerekben létrehozott diverz populációk és az ott szelektált törzsek sokkal rugalmasabban reagálnak a környezeti stresszhatásokra, és ezáltal jobb adaptációs képességgel rendelkeznek szelekciós környezetükben, mint a konvencionálisan előállítottak.

Az organikus nemesítés egyik fő célja olyan tulajdonságok azonosítása, melyek pozitívan befolyásolják a növény számos fiziológiai szükségletét. Az erőteljes korai növényfejlődés például javítja a gyomelnyomó képességet, a tápanyagok hasznosítását a korai fejlődési stádiumban, és jobb ellenállóságot biztosít a kártevőkkel és a talajlakó baktériumokkal szemben (Wolfe és mtsai. 2008). Mindez kihatással lehet a szemtermés beltartalmi és technológiai tulajdonságaira is. Számos kísérletet végeztek már a konvencionálisan nemesített búzafajták összehasonlítására organikus szántóföldi menedzsment alkalmazása mellett (Baresel és Reents 2006, Löschenberger és mtsai. 2008). Ezen túl mára már számos organikus és kombinált módszerrel előállított fajta is megjelent Európában, mely lehetővé teszi a különböző nemesítési stratégiák összehasonlítását is.

Az MTA Agrártudományi Kutatóintézetben értékeltük olyan búza- és durumfajták agronómiai, összetételi, táplálkozási és feldolgozóipari tulajdonságait, melyeket korábban az EU különböző agro-klimatikus körülményei és különböző szántóföldi menedzsmentek (organikus, low-input) alkalmazása mellett vizsgáltak. A vizsgálatok alapját részben regisztrált fajták és szelektált törzsek, részben pedig a Solibam pályázat 3. munkaprogramjában létrehozott populációk és fajtakeverékek alkották. A regisztrált fajtákat három különböző nemesítési stratégiával állították elő korábban: konvencionális, organikus vagy kombinált (BFOA) stratégiával. A fogyasztók lokális és globális igényeit figyelembe vettük a vizsgált tulajdonságok kiválasztásánál, de az eredményekből a nemesítők és a gazdák számára is hasznosítható, globális konklúziók levonása és globálisan hasznosítható eredmények azonosítása volt a cél.

### Anyagok és módszerek

Harminchét (magyar, osztrák, svájci, német és francia) búzafajtát vizsgáltunk agronómiai, fizikai, beltartalmi és sütőipari tulajdonságaik alapján. A kísérletben 20 konvencionálisan, 9 organikusan nemesített és 8 BFOA fajta vett részt. A szántóföldi kísérleteket Ausztria, Svájc és Magyarország 'low-input' és organikus termőhelyein végeztük el 3-3 szántóföldi ismételtsben, 3 évben (2011-2013). A vizsgált fajták, a termőhelyenkénti (LI, O) tápanyag utánpótlás, az elővetemény, valamint a szántóföldi felvételezés részleteit Mikó és mtsai. (2014) foglalták össze.



Emellett tizennégy konvencionális nemesítéssel, négy különböző országban előállított durumbúzafajtát és fajtajelöltet is vizsgáltunk három ország (Magyarország, Ausztria, Franciaország) low-input és organikus termőhelyein három évben (2011-2013).

Három országban (Ausztria, Anglia, Magyarország) előállított kompozit fajtakeveréseket és kompozit populációkat, CCP-ket (POP-AT, MIX-AT, YQ-CCP, YQ-MIX, INRA-60parent, Elit-CCP, Magyar-CCP, NIAB-Elite-CCP, NIAB-Elite-MIX) is teszteltünk, valamint új, diverz kompozit populációkat hoztunk létre alakor, tönke és durum felhasználásával. A fajtakeverések előállítása során az YQ-CCP angol kompozit populációt összekeverték 1:2 és 2:1 arányban Stefanus vagy Midas búzafajtával Ausztriában, Mv Suba vagy Mv Regiment fajtával Magyarországon, valamint az Alchemy vagy Solstice fajtával Angliában. Magyarországon az Elit-kompozit populációt szintén keverték Mv-Subával, és Mv-Regimenttel. Továbbá az Elit-CCP, az YQ-CCP és egy kétszülős F2 populáció felhasználásával eltérő menedzsment stratégiájú területeken párhuzamosan végzett szelekciós kísérletet is indítottunk, és vizsgáltuk a különböző területek és szelekciós stratégiák hatását.

Az organikus termesztésre szánt alakor (Mv Alkor) és tönke (Mv Hegyes) fajták felhasználásával ökológiai vetőmag-előállítás, illetve fajtafenntartó nemesítési kísérleteket állítottunk be, valamint az Elit-CCP termésének méretszerinti frakciókra való bontásán keresztül vizsgáltuk az egyes frakciók agronómiai tulajdonságokra gyakorolt hatását.

Minden, kísérletben szereplő növényanyagon felvételeztük a 19 legfontosabb morfológiai, agronómiai és rezisztencia tulajdonságot (*Mikó és mtsai. 2014*). A búza fizikai, beltartalmi és sütőipari tulajdonságait az alábbi módszerekkel vizsgáltuk: ezerszem tömeg (MSZ 6367/4-86), hektoliter-tömeg (MSZ 6367/4-1983) szemkeménység (AACC Method 55-31), esésszám (ICC 107/1), Zeleny szedimentáció (ICC 116/1), fehérje- (ICC 105/2), nedvessikér-tartalom (ICC137/1, ICC 155), arabinoxilán tartalom (*Douglas 1981*) és Brabender Farinográf vizsgálat (ICC 115/1).

## Eredmények és következtetések

A 37 búzafajta, 14 durum és az új populációk szántóföldi eredményei alapján megállapítottuk, hogy:

1. az általunk létrehozott 5 új, diverz populáció (alakor CCP, tönke CCP, durum CCP trigenerikus tetraploid CCP és durum $\times$ alakor szintetikus hexaploid CCP) a búza-nemesítés értékes alapanyaga lehet, mivel egyes tulajdonságokban kiemelkedő stabilitást, valamint nagy betegség-ellenállóságot mutattak,
2. a különféle módszerrel létrehozott búzapopulációk a származásuk (adaptációs képességük) alapján elkülöníthetők voltak egymástól,
3. a fajtakeverések hozamstabilitást növelő hatása bizonyítást nyert low-input körülmények között,
4. a kompozit populáció (CCP) termését növelte búzafajták magjának a hozzákeverése, míg a fajták talajborítását (gyomelnyomó képességét) stabilabbá tette a CCP hozzákeverése,
5. egy keverék (YQ-CCP [67%] + Mv Regiment [33%]) esetén a keverés kompenzáló hatása több tulajdonság tekintetében is bizonyítást nyert, azonban a termés alakulása a keveréstől függetlennek bizonyult,
6. a szelekció területének pozitív hatása főként a kalászutódsoros szelekció esetén nyilvánult meg,
7. organikus területen a termőképességre, hektolitersúlyra, levélállásra és kalászoláskori növekedési erélyre érdemesebb szelektálni a későbbi generációkban, míg a kalászolási időre, illetve levélrozda- és lisztharmat-ellenállóságra történő szelekció független a szelekciós területtől (organikus vagy low-input),
8. a szelekciós kísérlet eredményeképpen a legnagyobb stabilitást mutató búzatörzsek CCP eredetűek voltak, ezért ezek a populációk ígéretes kiinduló anyagai lehetnek az organikus búzanemesítésnek,



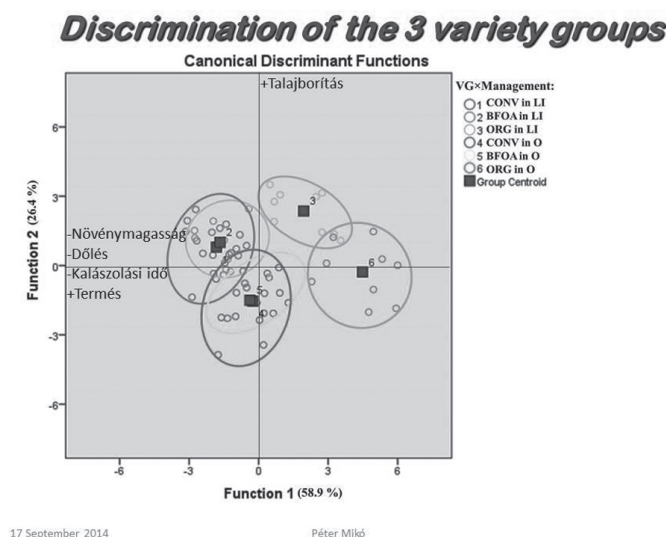
9. a durumfajták organikus nemesítésénél kiemelt figyelmet kell fordítani a télállóságra, csírázóképessegre és az N hasznosító képességre,
10. a fajtafenntartó nemesítési kísérletben a terület szignifikáns hatással bírt a termésstabilitásra,
11. az organikus vetőmag-előállítási kísérlet eredménye szerint az utántermesztett vetőmagnál jobb a saját termesztésű vagy fémzárolt vetőmag a tisztaság, a gyommagtartalom, a csírázóképesseg és a terméspotenciál tekintetében,
12. a frakció-szerinti tömegszelekciós kísérletben szignifikáns eltérés volt a frakciók és az eredeti búza CCP között a kelés utáni növényssűrűség, a kalászolási idő és a levélrozda fogékonyság tekintetében. Emellett a vetőmag méretének a termésre gyakorolt pozitív hatását is kimutattuk.

A 37 búzafajta, 14 durum és az új populációk minőség vizsgálatával megállapítottuk, hogy:

1. a vizsgált minőségi tulajdonságokra a genotípusnak és az évjáratnak erős szignifikáns hatása volt,
2. a BFOA, kombinált nemesítési módszer (korai generációk szelekciója konvencionális területen, majd a későbbi szelekció organikus területen) a leghatékonyabb olyan stabil fajták előállítására, melyek organikus és low-input termesztésre is ajánlhatóak,
3. a nemesítési stratégiák közötti különbségeket leginkább a siker minőséget jellemző paraméterek szórása írta le, így a sikerterület és a sikerindex,
4. a szántóföldi menedzsment stratégiák közötti különbségeket a búzamaz fizikai tulajdonságai jellemezték (hektolitersúly, ezerszemtömeg),
5. azonosítottunk organikus termesztésre ajánlható konvencionális nemesítésű búzafajtákat,
6. durumfajták esetén a szántóföldi menedzsmentek közötti különbségeket a fehérje- és sikértartalom jellemezte a leginkább,
7. azonosítottunk néhány organikus termesztésre ajánlható durumfajtát, de a minőségstabilitás értékelésére még további módszerek alkalmazására lesz szükség,
8. szignifikánsan nagyobb vízzoldható arabinoxilánt tartalmazott az Elit-CCP lisztje és ennek keveréke az Mv Suba elit búzafajtaival. Ez a populáció és keverékei ezért ígéretes források lehetnek a rostanyagban gazdag táplálkozásnak, miközben organikus termesztésre is alkalmasnak mutatkoztak.

## Összefoglaló

A GxExM vizsgálatoknak köszönhetően, megállapítottuk e tényezők hatását a fajtákra, majd azonosítottuk a leghatékonyabb nemesítési stratégiát és az organikus körülmények között termesztendő konvencionális fajtákat. A 37 búzafajta többéves, több termőhelyes vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy az organikus nemesítőknek gazdaságilag hatékonyabb a kalászolási időre, illetve levélrozda- és lisztharmat-ellenállóságra a korai generációkban, konvencionális területen szelektálni, míg a termőképességre, hektolitersúlyra, levélállásra és kalászoláskori növekedési erélyre érdemesebb a célkörnyezetben, organikus területen szelektálni a későbbi generációkban. Ezen kívül az organikus búzafajták különbözősége is bizonyítást nyert a konvencionális fajtákkal történt összehasonlításában (1. ábra).



1. ábra. 37 őszi búzafajta diszkriminancia analízise 2011 és 2013 között Magyarországon és Ausztriában mért 15 fontosabb agronómiai tulajdonság alapján. A fajták 3 nemesítési stratégia (CONV, BFOA és ORG) szerinti fajtacsoportba (VG) osztva, organikus (O) és low input (LI) területen történt vizsgálat alapján (VG×Management) 6 csoportot alkotnak (a legerősebb szignifikáns hatással bíró tulajdonságok is feltüntetve)

Az organikus nemesítés eltérő kimenetelét támasztották alá a populációkon végzett vizsgálatok és a szelekciós kísérletek is, melynek eredményeként számos organikus termesztésre alkalmas búzatörzset azonosítottunk, és ezeket a közeljövőben tervezzük tovább vizsgálni az általunk előállított új, diverz CCP-kel együtt. A már regisztrált, közel homogén organikus fajták tekintetében pedig megállapítottuk, hogy a fajtafenntartó nemesítés eredményessége független a fenntartásra használt területtől (organikus vagy konvencionális), továbbá az ökológiai gazdálkodók termésbiztonságának elengedhetetlen feltétele az ellenőrzött körülmények között előállított vetőmag.

A genotípus és az évjárat szignifikáns hatását mutattuk ki mind a búza, mind a durum beltartalmi és feldolgozóipari minőségére is. Az organikus és 'low-input' termesztésre egyaránt alkalmas, stabil minőségű fajták nemesítésére a leghatékonyabb módszernek a kombinált BFOA módszert találtuk mind agronómiai, mind beltartalmi szempontból. A nemesítési stratégiák közötti különbségeket leginkább a siker minőséget jellemző paraméterek (sikerterület, sikerindex, téstastabilitás) szórása jellemezte. A szántóföldi menedzsment stratégiák közötti különbségeket búza esetén a mag fizikai tulajdonságai írták le, valamint a Zeleny szedimentáció és az esésszám, míg durumnál a fehérje és a siker tartalom volt a meghatározó. Az organikus körülmények között legstabilabb minőségű, konvencionálisan nemesített fajtákat azonosítottuk. Ezek organikus termesztésre a gazdáknak ajánlhatók.

A nagy rostanyag tartalmú, búza CCP eredetű liszt önmagában általában nem alkalmas hagyományos sütőipari termékek előállítására, mivel a rostanyagok jelenléte befolyásolja a liszt vízfelvételtét és ezáltal más feldolgozóipari tulajdonságokat is. A nagy rostanyagtartalmú liszt keverése normál lisztével azonban kiváló megoldás lehet egy új típusú, kenyérfőzésre még alkalmas, ugyanakkor rostanyagokban gazdag liszt előállítására. Eredményeink végeredményben az egészségesebb humán táplálkozáshoz járulnak hozzá, mindamelllett, hogy hasznos információkat szolgáltatnak, mind a nemesítők, mind a gazdák, mind pedig a fogyasztók számára.

### Köszönetnyilvánítás

A kutatást az EU-FP7-245058-SOLIBAM (2007-2014) és az EU\_BONUS\_12-1-2012-0032 pályázatok támogatták.

### Irodalomjegyzék

- Baresel, J.P., Reents, H.J. (2006): Observations on long-term wheat variety trials under organic and conventional conditions in Germany. In: Østergard H, Fontaine L (eds) Proceedings of the COST SUSVAR workshop on cereal crop diversity: implications for production and products. ITAB Press, Paris, France
- Douglas, S.G. (1981): A rapid method for the determination of pentosans in wheat-flour. *Food Chemistry*, **7**, 139-145.
- Löschenberger, F., Fleck, A., Grausgruber, H., Hetzendorfer, H., Hof, G., Lafferty, J., Marn, M., Neumayer, A., Pfaffinger, G., Birschitzky, J. (2008): Breeding for organic agriculture: The example of winter wheat in Austria. *Euphytica*, **163**, 469-480.
- Mikó, P., Löschenberger, F., Hiltbrunner, J., Aeby, R., Megyeri, M., Kovács G., Molnár-Láng, M., Vida, G., Rakszegi, M. (2014): Comparison of bread wheat varieties with different breeding origin under organic and low input management. *Euphytica*, **199**(1-2), 69-80.
- Wolfe, M.S., Baresel J.P., Desclaux D., Goldringer I., Hoad S., Kovács G., Löschenberger F., Miedaner T., Østergard H., Lammerts van Bueren E.T. (2008): Developments in breeding cereals for organic agriculture. *Euphytica*, **163**, 323-346.

## ÚJ SZENZOROK ROVAROK ON-LINE DETEKTÁLÁSÁRA

DOMBOS MIKLÓS<sup>1</sup>, TÓTH MIKLÓS<sup>2</sup>

*MTA Agrártudományi Kutatóközpont*

<sup>1</sup>*Talajtani és Agrokémiai Intézet, Környezetinformatikai Osztály*

<sup>2</sup>*Növényvédelmi Intézet, Alkalmazott Kémiai Ökológiai Osztály*

*1022 Budapest, Herman Ottó u. 15.*

*<sup>1</sup>dombos.miklos@agrar.mta.hu*

### Összefoglaló

A rovarpopulációk egyedszámbecslése óriási idő- és ezért költségigény elé állítja mind a természet- és környezetvédelmi, mind a növényvédelmi szakembert. Ez az oka annak, hogy a különböző célú rovarmonitorozás csak kis mintaszámban és/vagy alacsony pontossággal képes eredményt elérni. E probléma megoldására fejlesztettük ki az EDAPHOLOG® szenzorrendszert, mely opto-elektronikus szenzorokkal, automata módon méri a csapdába behulló rovaregyedeket, illetve továbbítja az adatokat a központi szerverre, megvalósítva az in-situ, on-line monitorozást. Az INSECTLIFE projektben az EDAPHOLOG® rendszert fejlesztjük tovább, melynek segítségével nemcsak a talajlakó mezofaunát, hanem a talajfelszínen mozgó, fán mászó és repülő rovarokat is érzékelni tudunk, legyenek azok mezőgazdasági kártevők, vagy hasznos rovarok. E fejlesztést a CSALOMON® feromon rovarcsapda család szenzorokkal való felszerelésével érjük el. Emellett további CCD illetve, NIR típusú szenzorokat fejlesztünk, melyekkel már nemcsak az egyedszám és biomassza mérése, hanem – reményeink szerint – további elemzési lehetőség (magasabb taxoncsoporthoz tartozás, in-situ terepi kísérlet) is megvalósítható lesz. Jelen munkában az opto-elektronikus és a CCD szenzorok pontossági és megbízhatósági tesztjeit, illetve a továbbfejlesztés technikai koncepcióját mutatjuk be.

### Bevezetés

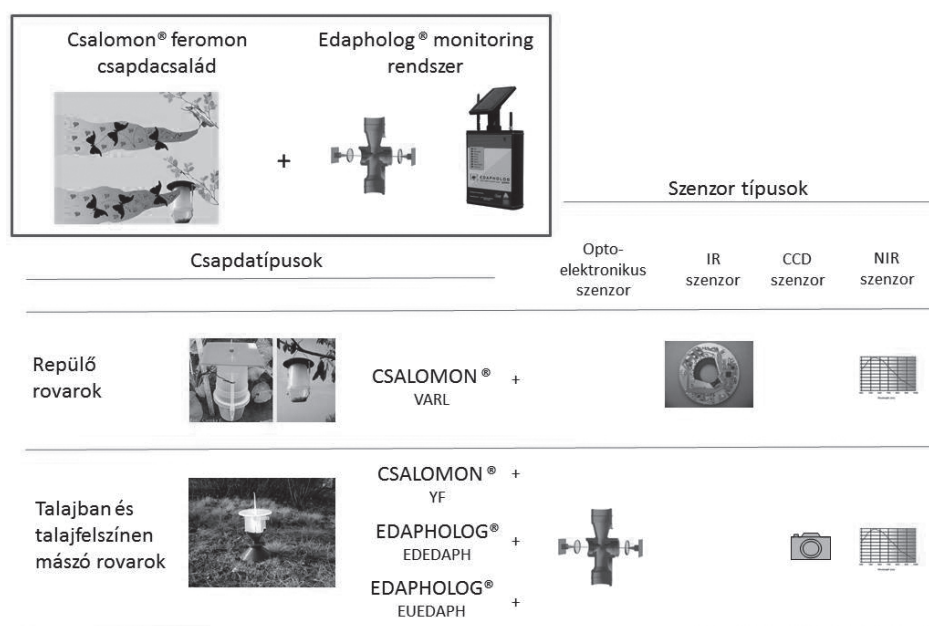
#### *EDAPHOLOG® szenzor rendszer*

A MEDAPHON LIFE+ projekt keretében létrehoztunk egy talajbiológiai monitorozó eszközt, mely a talajlakó rovarok folyamatos, automata terepi monitorozására képes. Az EDAPHOLOG® monitorozó rendszer alapját egy innovatív szonda alkotja, mely optikai-elektronikai szenzorok segítségével képes valós időben a talajlakó mezofauna mérésére, további eleme a szintén saját fejlesztésű GSM / GPRS adattovábbító egység, mely a szondák adatait a központi szerverre továbbítja. A monitorozás folyamatos távoli ellenőrzésére egy Oracle® és Java® alapú vezérlő szoftvert is kifejlesztettünk. Így az EDAPHOLOG® szenzor rendszerrel a talajlakó rovarok aktivitását távolról is tudjuk észlelni, az EDAPHOWEB szerveralkalmazás segítségével bármely (pl. óránkénti) időfelbontásban aktuális (real-time) adatokat kapunk.

#### *Az újabb fejlesztésű rovarcsapdák és szenzorjaik*

Az INSECTLIFE projekt egyik céljaként ezt az eszközt a növényvédelmi előrejelzéshez fejlesztjük tovább úgy, hogy képesek legyünk detektálni a föld feletti biotópokban élő (repülő, mászó) kártevő és hasznos rovarokat is. Ezt a CSALOMON® feromon csapda család egyes rovarcsoportokra alkalmazott csapdáinak EDAPHOLOG® szenzorokkal, illetve azok továbbfejlesztett változataival történő felszerelésével kívánjuk megoldani (1. ábra). Ennek az az előnye, hogy - mivel a feromon csalétek faj-, illetve kártevő-specifikusak, a szelektív CSALOMON® csapdába beillesztett EDAPHOLOG® szenzorok csak a célkártevőt számolják,

és így a kártevő felbukkanása és népeségváltozásainak követése azonnal és automata módon észlelhető. Ez nagyban segíti a feromon csapdák alkalmazását, mivel itt a csapdák rendszeres ellenőrzése és a fogás megszámlálása a meghatározó költségtényezők a növénytermesztők számára. Automatikus számlálással olyan pontos (napi) felbontású adatokhoz jutnak a termelők, ami a hagyományos, emberi erővel való ellenőrzések kivitelezésekor a gyakorlatban nem lehetséges. Így új rendszerünk jelentősen elősegíti a növényvédelmi döntések alapjául szolgáló csapdahasználatot, környezetkímélőbb és precízebb növényvédelmet eredményez. A projektben e rendszer prototípusát állítjuk el, majd terepi körülmények között teszteljük. A biotikus és abiotikus adatok – mint jelenleg is – egy központi szerverre kerülnek, ahol on-line adathozzáférést biztosítunk. A rendszerrel elvileg a helyben mért és előre jelzett meteorológiai adatok segítségével a rovarpopulációk idődinamikájának modellezése is lehetővé válik, mely felhasználható lenne mind a kártevővédelemben, mind a környezetvédelemben. A repülő rovarokra a CSALOMON® csapdacsalád VARL típusú csapdáját használjuk fel, melyhez különböző szenzorokat fejlesztünk ki. A talajban élő és a talajfelszínen mozgó rovaroknál egyrészt a CSALOMON® csapdacsalád YF pattanóbogarakra használt csapdatípusát alkalmazzuk, illetve az EDAPHOLOG® újabb csapdáját fejlesztjük ki, mely a talajfelszíni rovarokat is képes gyűjteni. Ezekhez a szondákhoz új szenzorokat fejlesztünk, mellyel egyrészt a talajlakókat ökomorfológiai típusokba tudjuk (CCD detektálás), illetve a rovarokra történő detektálást el tudjuk különíteni az egyéb beesésektől (NIR szenzor).



1. ábra. Az újabb fejlesztésű szenzorok és csapdák.

## Anyagok és módszerek

### *Az opto-elektronikus infravörös érzékelő*

Az opto-elektronikus szenzor a talajlakó ízeltlábúakat beesés közben érzékeli, eközben megbecsli az egyedek testméretét. Az érzékelés az infravörös fény intenzitásának megváltozásán alapul. Az infravörös fotodiódák 30°-os szögben emittáló, 950 nm hullámhosszú fényt bocsátanak ki, a divergens fényt plan-convex lencsék homogenizálják. Az infra fénysugár áthalad az érzékelési mezőn, majd egy második



plan-convex lencse fókuszálja az érzékelő felé. Az érzékelési mezőt megszakító állat intenzitásváltozást okoz, melynek amplitúdója és hossza alapján a mikrokontroller egység digitális jellé alakítja az észlelést. Ezután az elsődleges jel 1-255 közötti értéket a valós testméret becslésére kalibrálhatjuk.

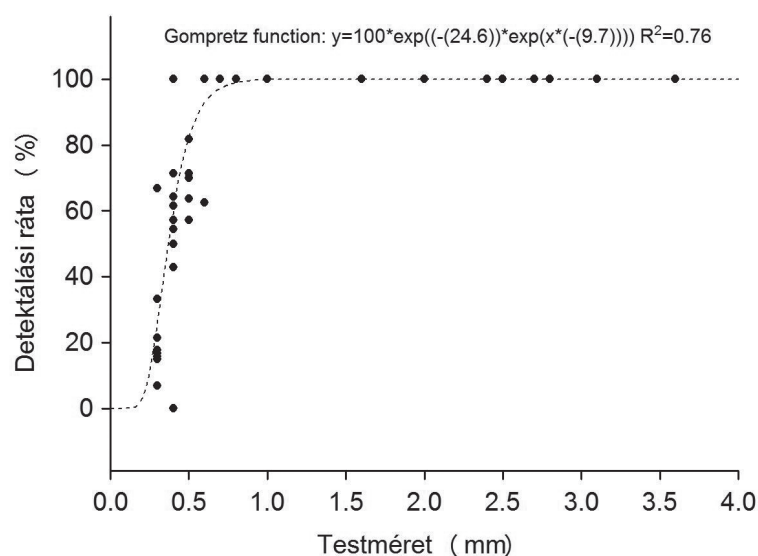
#### *CCD érzékelés, a CollScope digitális mikroszkóp*

Annak érdekében, hogy a testméretet pontosabban tudjuk mérni, felépítettünk egy digitális mikroszkópot, mellyel a rovarok testméretét automata módon tudjuk mérni. Az eszköz (CollScope digital microscopy) egy digitális kamerából (illetve fix optikából), ennek kezelő szoftveréből (CollScope photographing), egy képfeldolgozó szoftverből (ImageJ macro for image processing), illetve egy adatkezelő programból (CollResult) áll (Bánszegi és mtsai. 2014). Az eszköz pontossági vizsgálatainkban a *Folsomia candida* fajt használtuk, mivel e fajt ökotoxikológiai tesztekben széleskörűen használják az növekedési tesztekben az OECD szabvány szerint.

### **Eredmények és következtetések**

#### *Opto-elektronikus szenzor rovardetektálás pontossága*

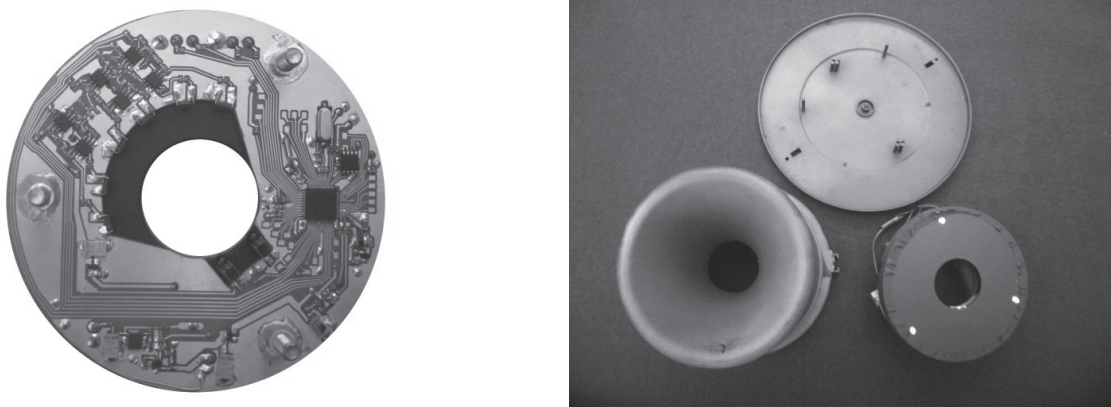
Az opto-elektronikus mérési módszer pontosságának megatározásához különböző méretű rovarokat detektáltunk, majd vizsgáltuk a detektálás sikerességét. A 2. ábrán látható, hogy a detektálás 100%-os a 0.5mm-nél nagyobb rovarok esetében. 200-400 mikrométeres rovaroknál a detektálás hatékonysága lecsökken, azonban ebben a tartományban már viszonylag kevés a mezofauna aránya.



2. ábra. Az opto-elektronikus szenzor detektálási hatékonysága.

CSALOMON® feromon csapda családdal fogható kártevő rovarok nagyobbak e méretnél. Ugyanakkor a szenzor érzékeny a fényviszonyok hirtelen megváltozására, mely a talajban működő EDAPHOLOG® szondánál nem volt releváns. Ezért a szenzor érzékenységét csökkentettük, továbbá a belső architektúrát átalakítottuk (3. ábra). Az infravörös érzékelésen alapuló szenzort a VARL típusú CSALOMON® varsás feromon csapda gyűjtőtölcséréhez alakítottuk ki. Az érzékelési sík a tölcser alján helyezkedik el, az érzékelő felület egy kb. 3 cm átmérőjű kör lap. Az eszköz jelenleg szabadtéri tesztelés alatt van, mely a kártevő rovarfajok

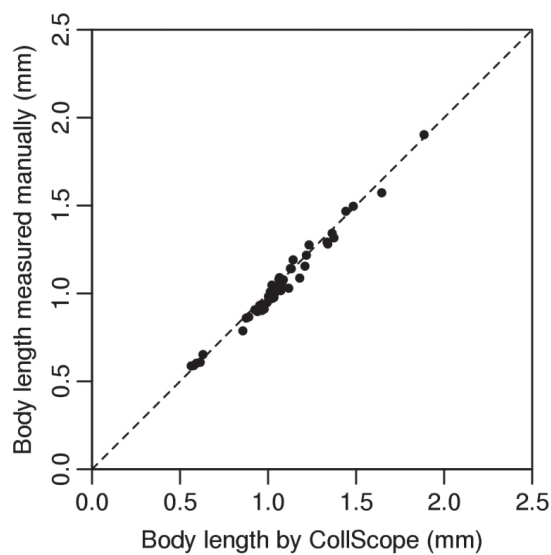
infravörös detektorral kapott mintázatelemzéséhez szükséges. Ez alapján lehet a szenzor mikrokontrollerjén történő értékelő algoritmust meghatározni, majd pontossági vizsgálattal eldönteni, hogy a szenzor megfelelően működik-e. Éppen ezért, párhuzamosan az optoelektronikus szenzorfejlesztéssel más működési elven alapuló szenzorokat is kipróbálunk, így pl. a mikrohullámú szenzort, továbbá a NIR tartományban működő, kifejezetten rovarok detektálásához alkalmas hullámhossztartományra optimalizált szenzort.



3. ábra. A CSALOMON® VARL típusú csapdába épített IR szenzor

#### *CCD szenzor testméret mérésének pontossága*

A CCD módszer két fő eleme a digitális kamerázás és képfeldolgozás. Kép készítése csak olyan rovarokon történhet, melyek valamilyen nyugalmi helyzetbe kerülnek az objektívmezőben, ezért e módszert a talajfelszíni és talajlakó rovaroknál tudjuk alkalmazni. Ha a képmező megfelelően van kialakítva, akkor viszonylag egyszerű képfeldolgozással is nagyon pontos testhosszt tudunk mérni rovarokról (4. ábra). A CollScope digitális mikroszkópon kialakított eljárás alkalmas lehet arra, hogy a módszert terepi szondákban használjuk fel. A képelemzés továbbfejlesztésével kétféle mód is nyílik új adatok terepi mérésére: egyrészt az ún. képalak tanuló képelemzés segítségével pl. ökomorfológiai csoportokra tudjuk bontani a mezofaunát, mely az ökológiai állapotértékelésnél lehet hasznos. Másrészt, a képmezőben kialakított biológiai kísérletet – pl. táplálékpreferencia, vagy toxikológiai teszt – automata módon tudjuk véghezvinni in-situ terepi körülmények között, mely különféle környezetvédelmi vizsgálatoknál – pl. élőhely rekonstrukció, remediáció – adhat rendkívül hasznos és új adatokat.



4. ábra. CollScope digitális mikroszkóp testhosszmérési pontossága

### Köszönetnyilvánítás

A kutatást az INSECTLIFE (LIFE13/ENV/HU/001092) /2014-2018/ EU finanszírozású projekt támogatja.

### Irodalom

Bánszegi O, Kosztolányi A, Bakonyi G, Szabó B, Dombos M (2014) New Method for Automatic Body Length Measurement of the Collembolan, *Folsomia candida* Willem 1902 (Insecta: Collembola). PLoS ONE 9(6): e98230. doi:10.1371/journal.pone.0098230

## TITOKTARTÁSI FELHÍVÁS

Az ATK Tudományos Nap valamennyi előadásán elhangzó, nyomtatott anyagban megjelenő vagy egyéb módon ismertetett, nem publikált kutatási eredmény, találmány egyéb műszaki információ és adat a konferencia résztvevőire korlátozott számú személynek kerül átadásra. Az itt elhangzottak vagy leírtak törvényes jogosultjaik kizárólagos szellemi tulajdonát képezik, és csak a jogosultak engedélyével használhatók fel vagy hozhatók nyilvánosságra. Az engedély nélküli felhasználás vagy nyilvánosságra hozatal a találmányok szabadalmi oltalmáról szóló 1995. évi XXXIII. tv. 3. §. (2) bekezdésének a) pontja értelmében nem jelenthet újdonságrontást későbbi szabadalmi bejelentésekkel szemben.





TÁMOP-4.2.3-12/1/KONV-2012-0001

**SZÉCHENYI** 2020



MAGYARORSZÁG  
KORMÁNYA

Európai Unió  
Európai Szociális  
Alap



**BEFEKTETÉS A JÖVŐBE**